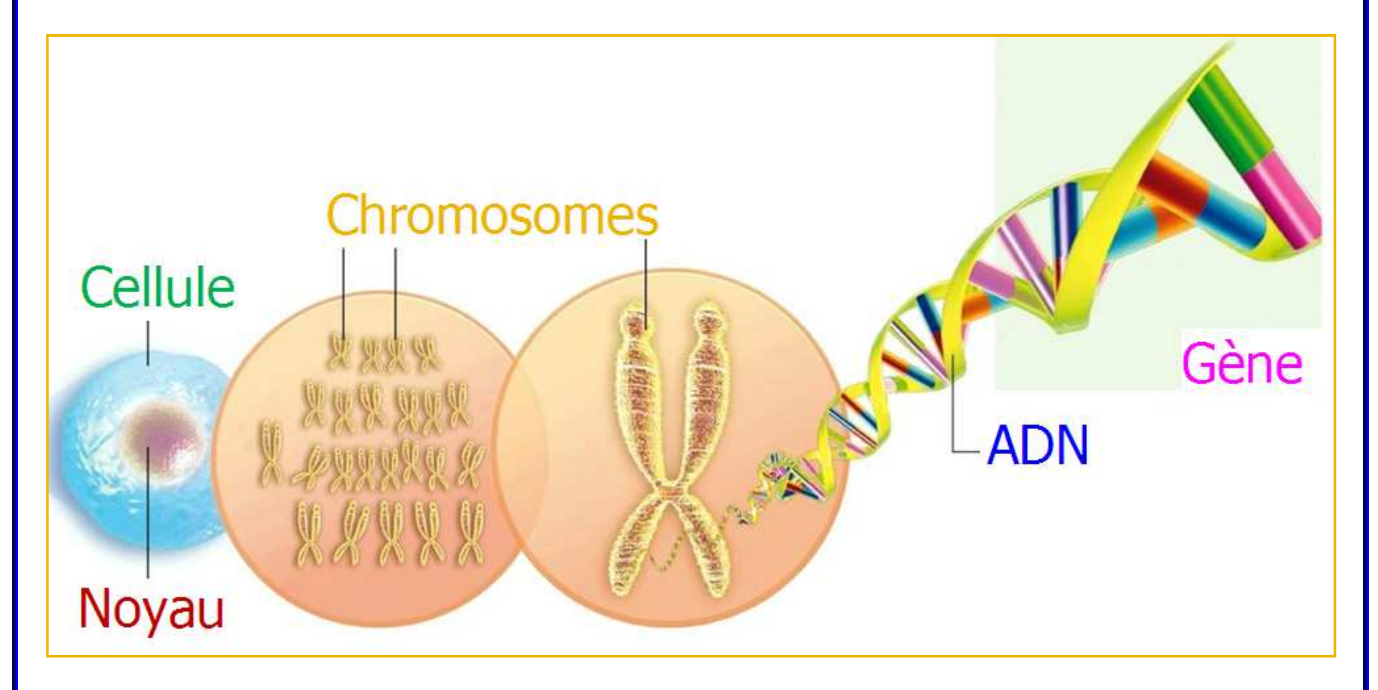
Information génétique

Première année du baccalauréat
Série : Sciences mathématiques
Option : Français

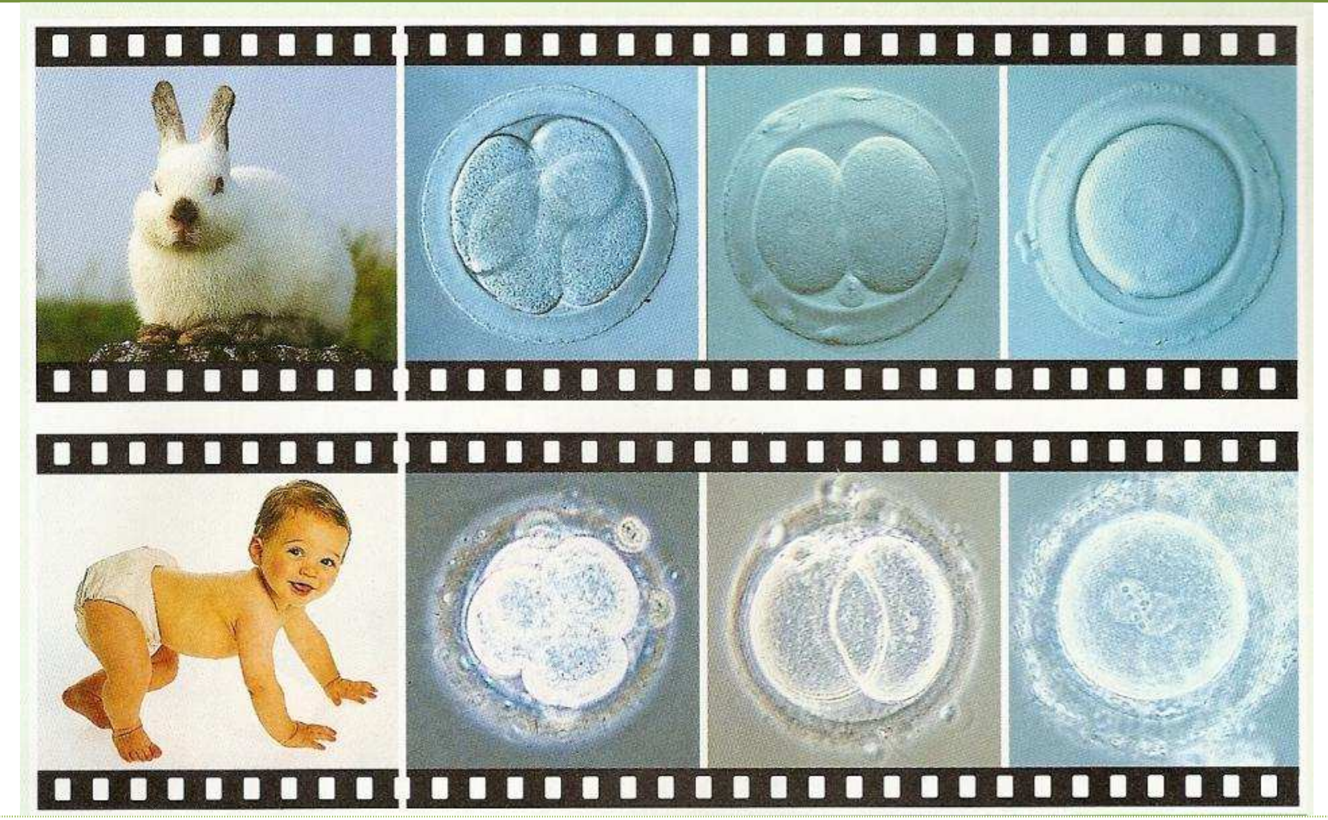


Chapitre I : La mitose et la transmission de l'information génétique.

Chapitre II : Expression de l'information génétique

Chapitre III : Le génie génétique : Principes et techniques.

Chapitre I : La mitose et la transmission de l'information génétique.



Doc 1 : Importance de la cellule œuf.

Hormis le cas des virus, la cellule est l'unité structurale de tout être vivant. Ainsi on peut distinguer entre les organismes unicellulaires, et les organismes pluricellulaires.

La cellule se compose de plusieurs organites qui accomplissent des fonctions biologiques diverses.

Chez les organismes animaux et plusieurs organismes végétaux, tout individu pluricellulaire provient de la cellule œuf à travers une succession de mitoses.

Chaque espèce se caractérise par des caractères qui se transmettent de génération en génération, par le biais de la reproduction sexuée, ou la reproduction asexuée. Ce sont les caractères héréditaires. On parle aussi de la transmission de **l'information génétique.**

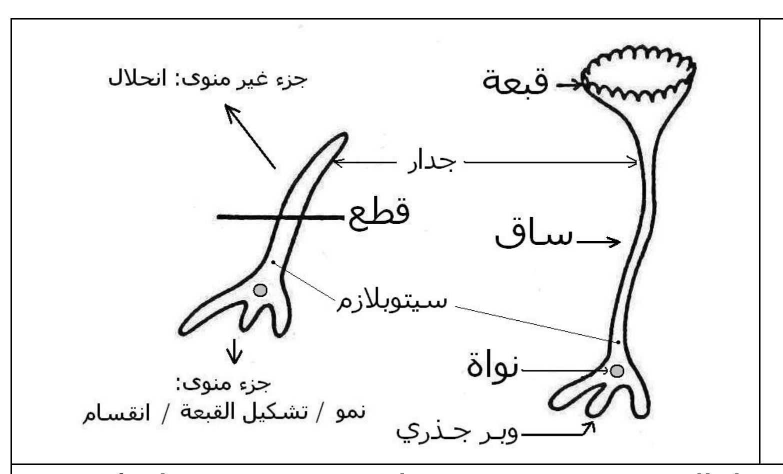
- Où se situe l'information génétique au niveau cellulaire ?
- Comment s'effectue la transmission de l'information génétique à travers la mitose ?

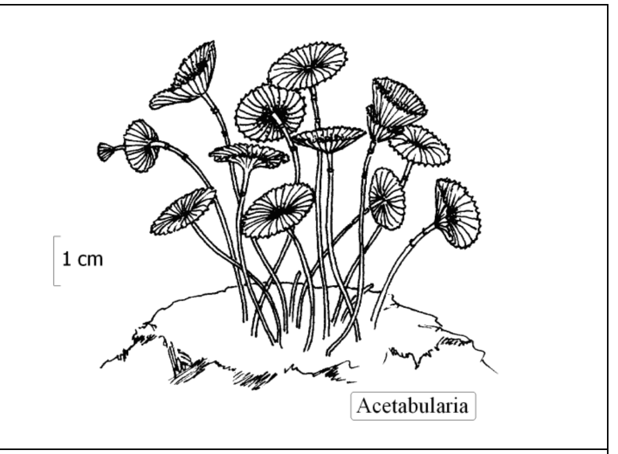
Unité 1 : Localisation de l'information génétique au niveau cellulaire.

L'information génétique est un ensemble d'informations codées. Le programme génétique est la totalité de l'information génétique que détient une cellule ou un organisme.

- *Où se situe l'information génétique au niveau de la cellule ?*
- *Comment peut montrer que l'information génétique se transmet lors des divisions cellulaires. ?*

.A- Des expériences sur l'algue Acetabularia.

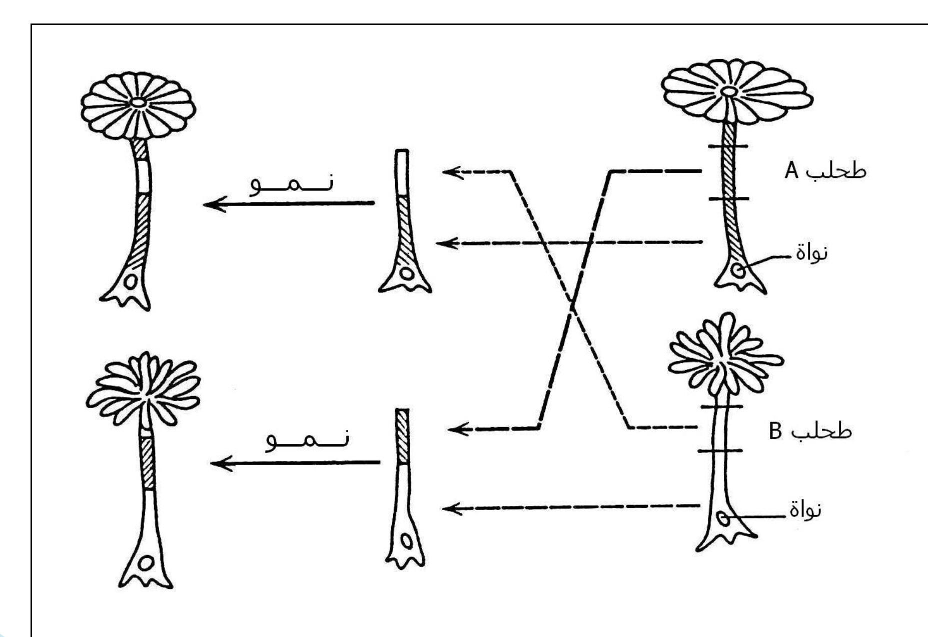




Acetabularia est une algue marine unicellulaire, dont la taille peut atteindre 6 cm à maturité. Elle est constituée d'un chapeau, d'une tige et d'un rhizoïde qui lui permet de se fixer sur les roches.

Doc 2 : Expérience de Mérotomie chez Acetabularia

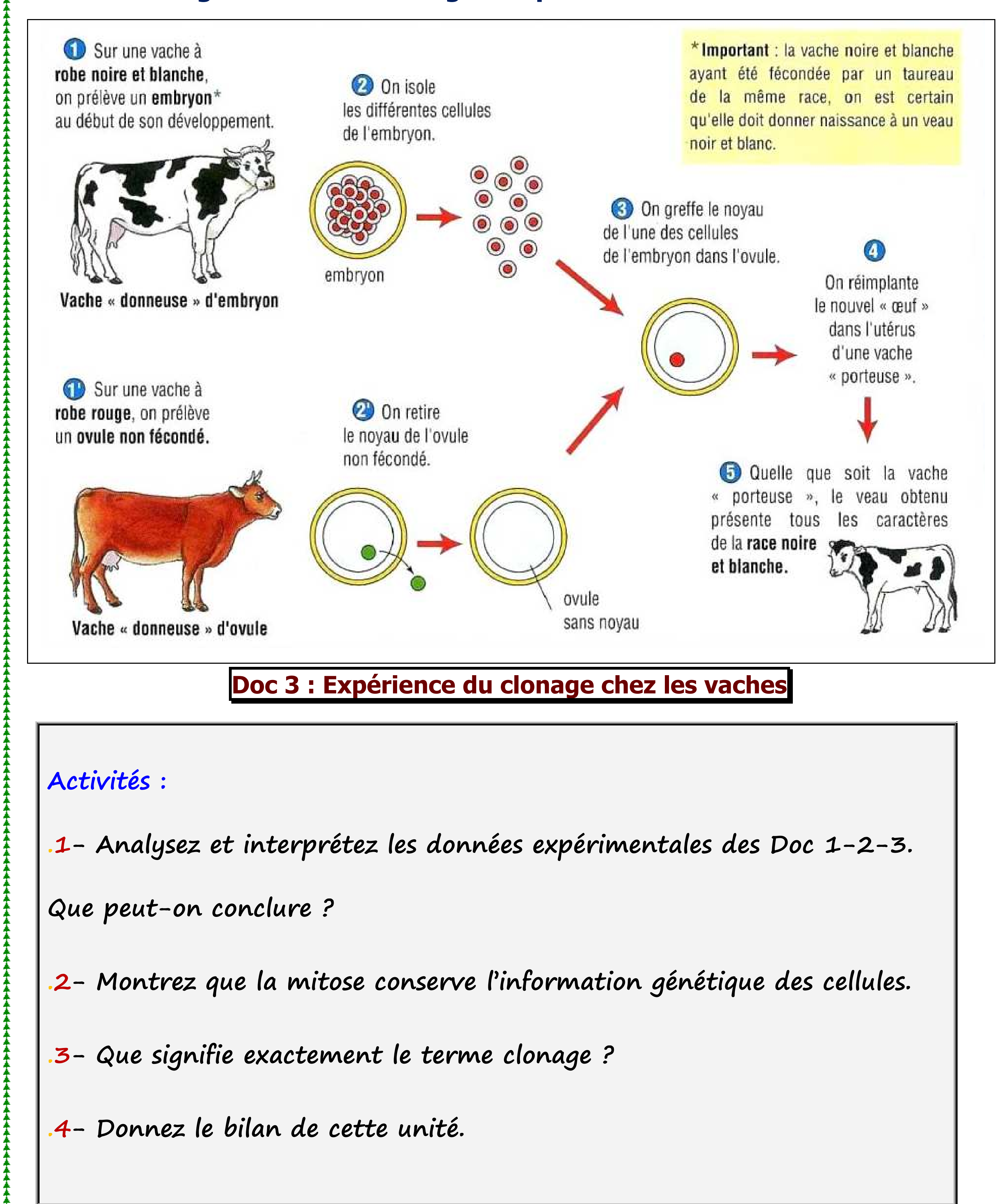
.



- Plusieurs espèces appartiennent au genre « Acetabularia ». Elles se distinguent par la forme du chapeau.
- La greffe cellulaire permet d'obtenir une cellule composée de deux parties provenant de deux cellules différentes.

Doc 2 : Expérience de la greffe cellulaire interspécifique chez Acetabularia.

.B- Le clonage et l'information génétique.



Doc 3 : Expérience du clonage chez les vaches

Activités :

.1- Analysez et interprétez les données expérimentales des Doc 1-2-3.

Que peut-on conclure ?

.2- Montrez que la mitose conserve l'information génétique des cellules.

.3- Que signifie exactement le terme clonage ?

.4- Donnez le bilan de cette unité.

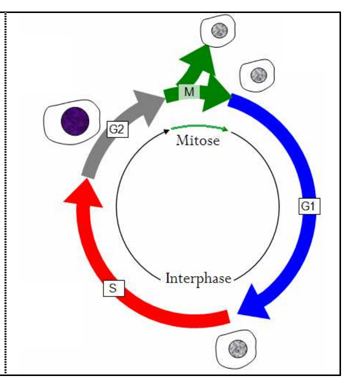
Unité 2 : Notion de cycle cellulaire / Structure du noyau métaphasique.

La mitose assure la croissance et le renouvellement cellulaire ; ainsi que la reproduction asexuée chez certaine espèces. Dans tous les cas elle conserve l'information génétique.

- *Que signifie le terme « cycle cellulaire » ?*
- *Quelle est la structure du noyau métaphasique ?*

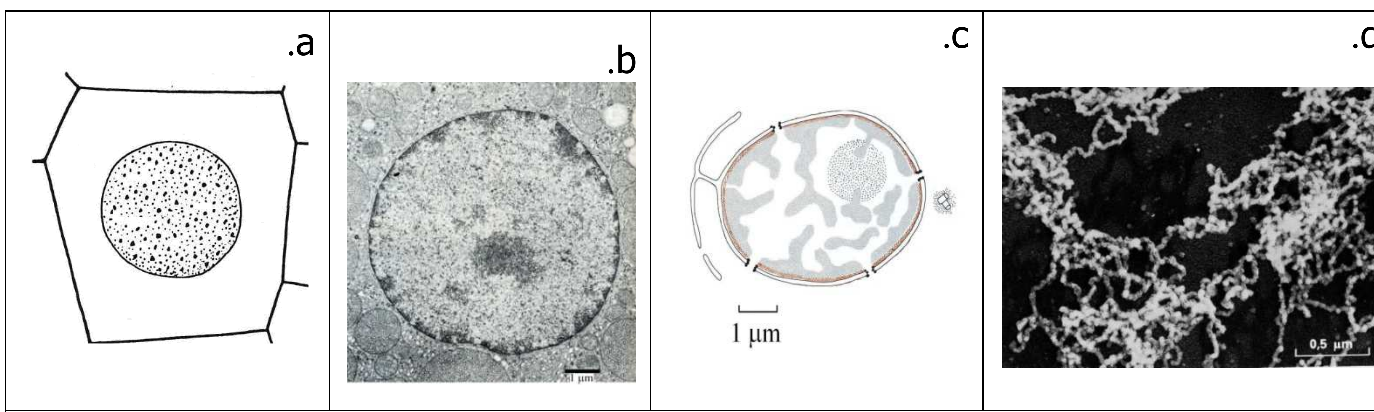
.A- Notion de cycle cellulaire.

La cellule qui subit la mitose s'appelle cellule mère. Les deux cellules qui résultent de la division sont dites cellule filles
L'interphase est la période qui sépare deux mitoses successives.
On est devant un phénomène cyclique que l'on désigne par « cycle cellulaire ».
Durant l'interphase on assiste généralement à une augmentation du volume des cellules.



Doc 1 : Le cycle cellulaire

.B- Structure du noyau métaphasique.



- Le noyau métaphasique est délimité par une enveloppe nucléaire ; et contient une substance homogène dite **chromatine**.
- Sur les électronographies, on observe un disque sombre, le **nucléole**. La chromatine est plus ou moins dense selon les régions.
- Le **nucléoplasme** est un liquide qui baigne la chromatine.
- L'enveloppe nucléaire est constituée de deux membranes traversées par les pores nucléaires.
- Lorsque la chromatine est traitée par une substance qui la fait éclater ; Les électronographies laisse apparaitre des filaments fins dits **nucléofilaments**.

Doc 2 : Structure et ultrastructure du noyau métaphasique.

Activités :

.1- Donnez une définition du cycle cellulaire
.2-Redessinez les figures a et c on ajoutant les légendes.
.3- De quoi est constituée la chromatine.
.4- Bilan

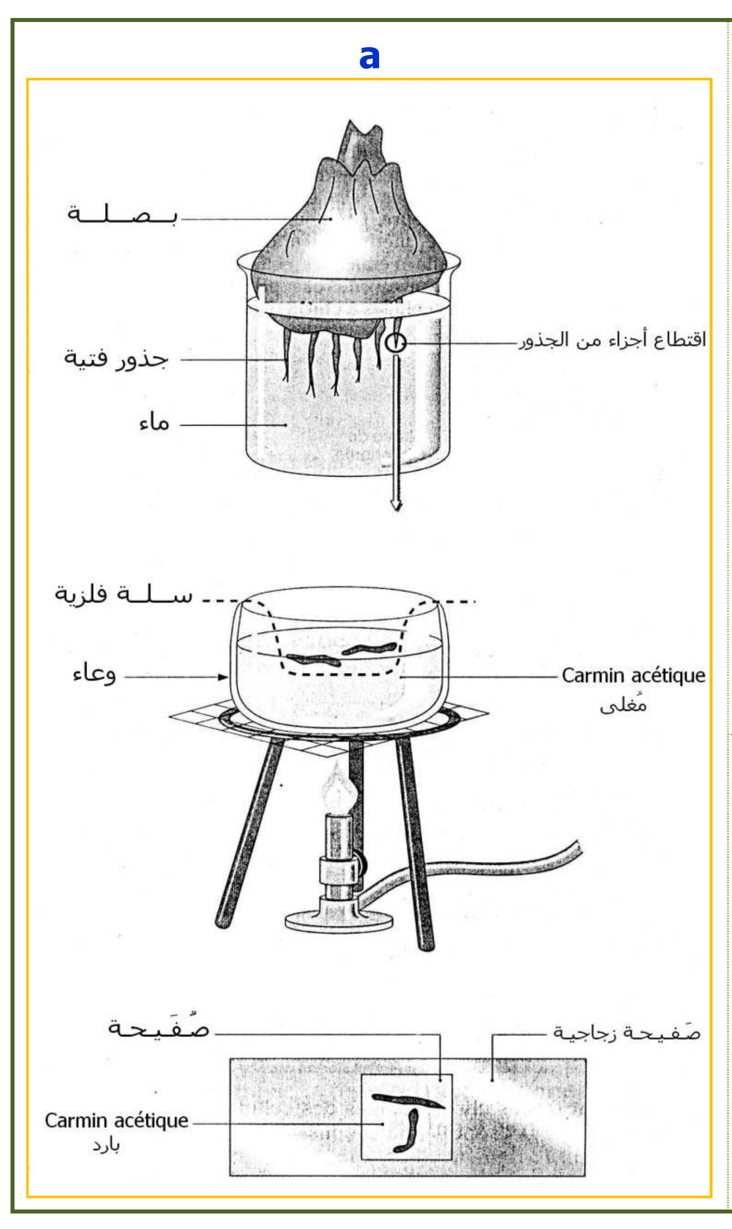
Unité 3 : Etude de la mitose.

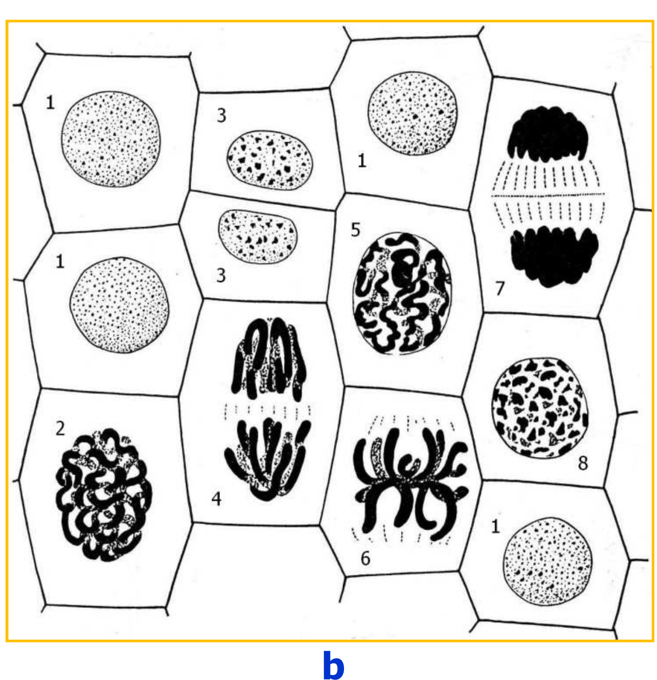
On peut observer des cellules en division, si on effectue des observations microscopiques dans un tissu en pleine croissance ; des racines d'oignon par exemple.

- Quels sont les principaux phénomènes qui marquent la mitose ?
- Comment peut-on mettre en évidence la transmission de l'information génétique au cours de la mitose ?
- Comment peut-on mettre en évidence l'unicité de la mitose chez les cellules animale et végétales ?

.A- Observer des cellules en état de division.

a





b

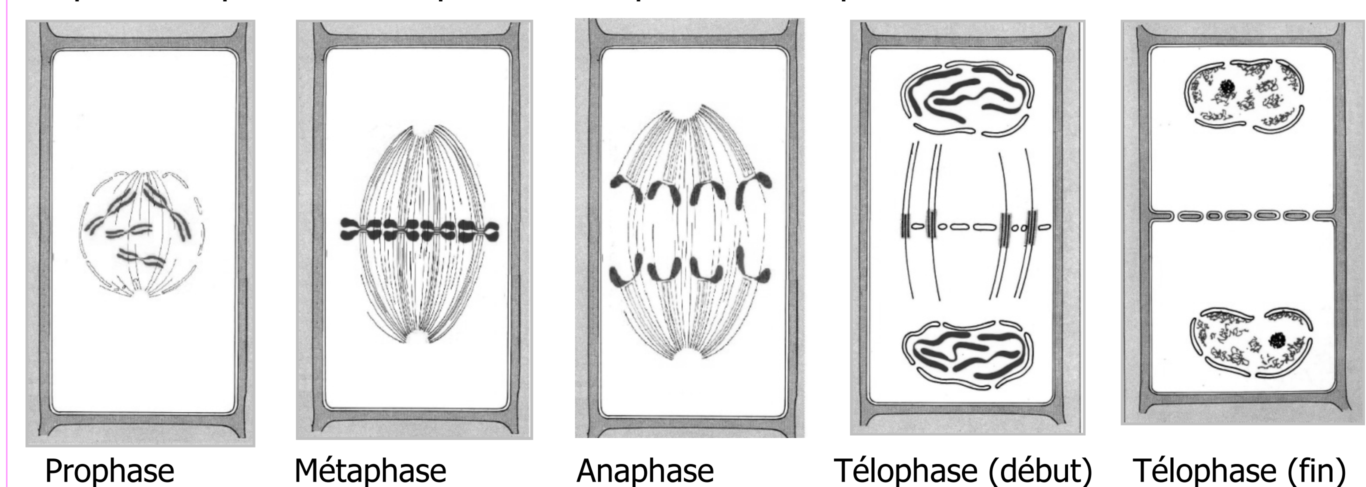
Doc 1 : Une manipulation pour observer des cellules en division

.a- Etapes de la manipulation.

.b- Schéma de l'observation microscopique

.B- Les étapes de la mitose chez la cellule végétale.

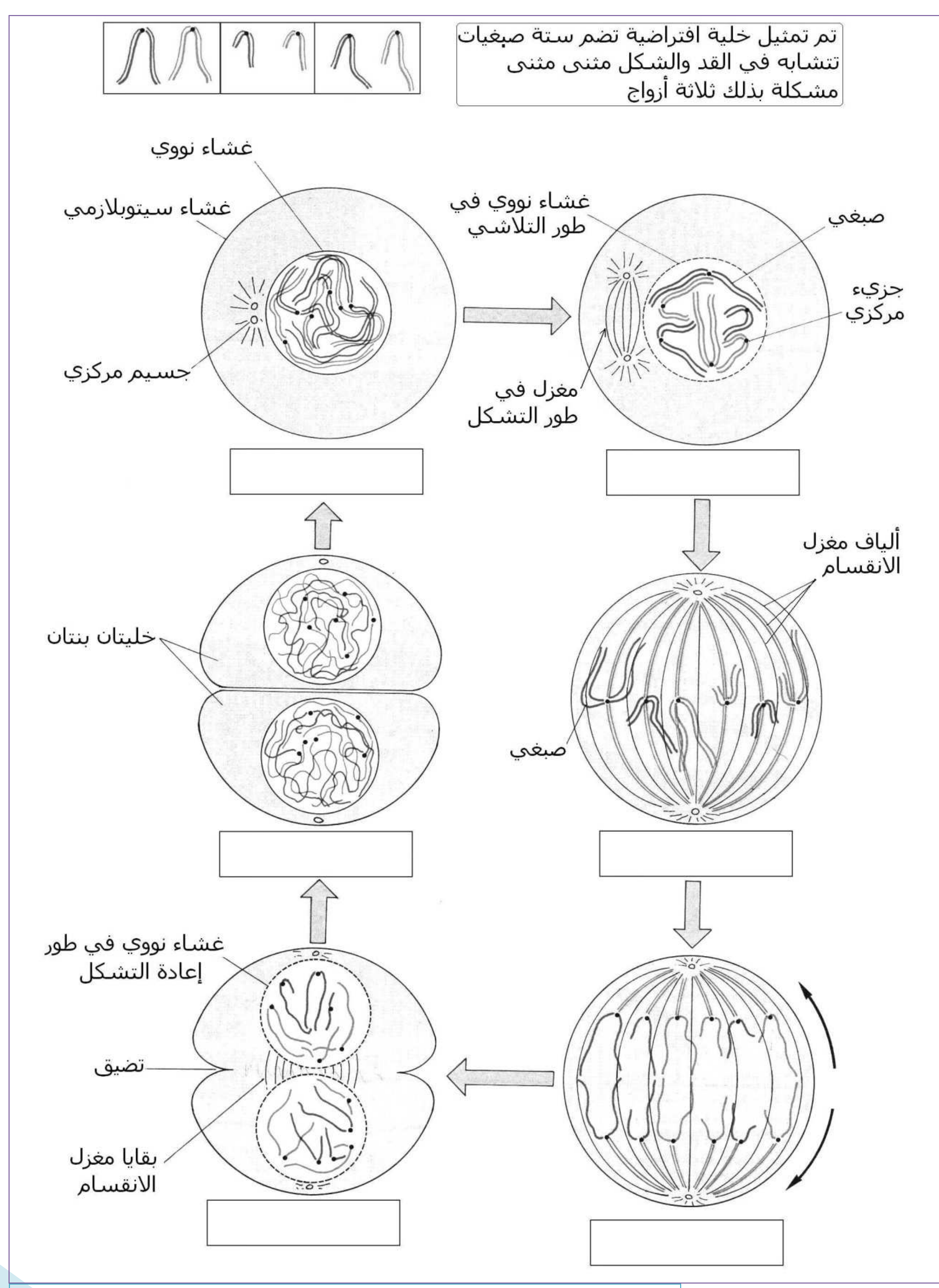
Bien que la mitose est un processus continu ; elle est subdivisée en quatre étapes : Prophase / Métaphase / Anaphase / Télophase



Doc 2 : Etapes de la mitose en schémas

Doc 3 : Des cellules végétales en division

.C- La mitose chez les cellules animales.



Doc 4 : La mitose chez les cellules animales en schémas.

Activités :

.1- Doc1 : Classez les cellules 1-2….-8 par ordre chronologique ; et faites une description sommaire de la mitose.

.2- Refaites les schémas du Doc2 ; Quelle la transformation que subissent les chromosomes durant l'interphase.

.3- Sur la figure du Doc3, les cellules en interphase paraissent plus nombreuses ; Pourquoi ?

.4- Complétez la légende du Doc4 ; et refaites les schémas pour une cellule à 2n = 4. Décrivez les étapes du cycle cellulaire.

.5- Que peut-on déduire de la comparaison entre la mitose chez les cellules animales et chez les cellules végétales.

Unité 4 : Le caryotype.

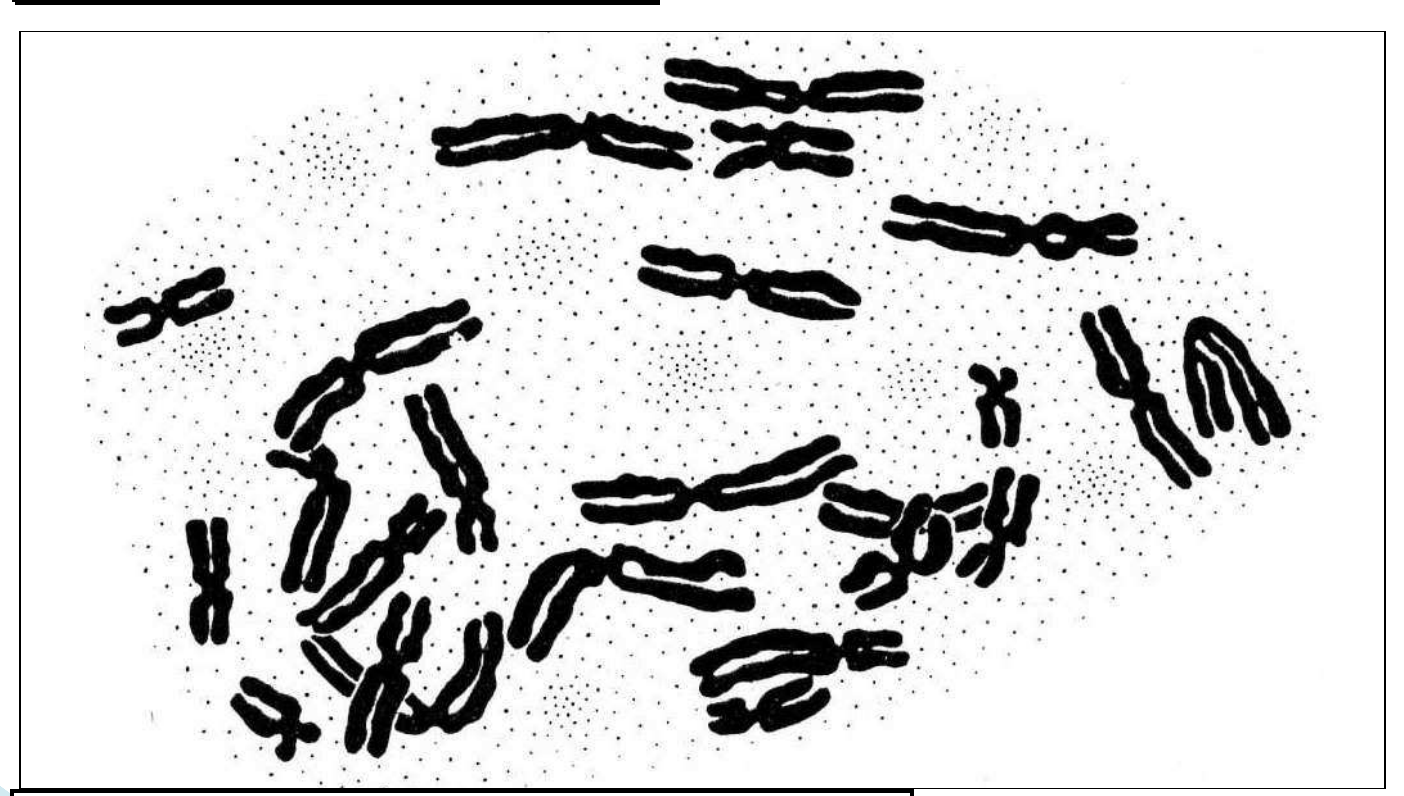
La taille et la forme des chromosomes varient selon les espèces. Les chromosomes varient aussi en ce qui concerne l'information génétique qu'ils détiennent.
Le caryotype permet de relever des informations sur les chromosomes d'une espèce.

- *Comment réalise-t-on* le caryotype ; et quelles sont les informations qu'on en tire ?

.A- Comment réaliser un caryotype ?

- On dispose des cellules dans un milieu qui favorise la division.
- On traite les cellules avec la colchicine ; une substance qui empêche la formation du fuseau de division. Ainsi les chromosomes restent éparpillés dans le cytoplasme.
- On fait éclater les cellules avec un choc osmotique.
- On photographie les chromosomes sous le microscope. Un programme informatique permet de ranger les chromosomes deux par deux et selon la taille.
- On attribue à chaque paire de chromosome un numéro conventionnel.

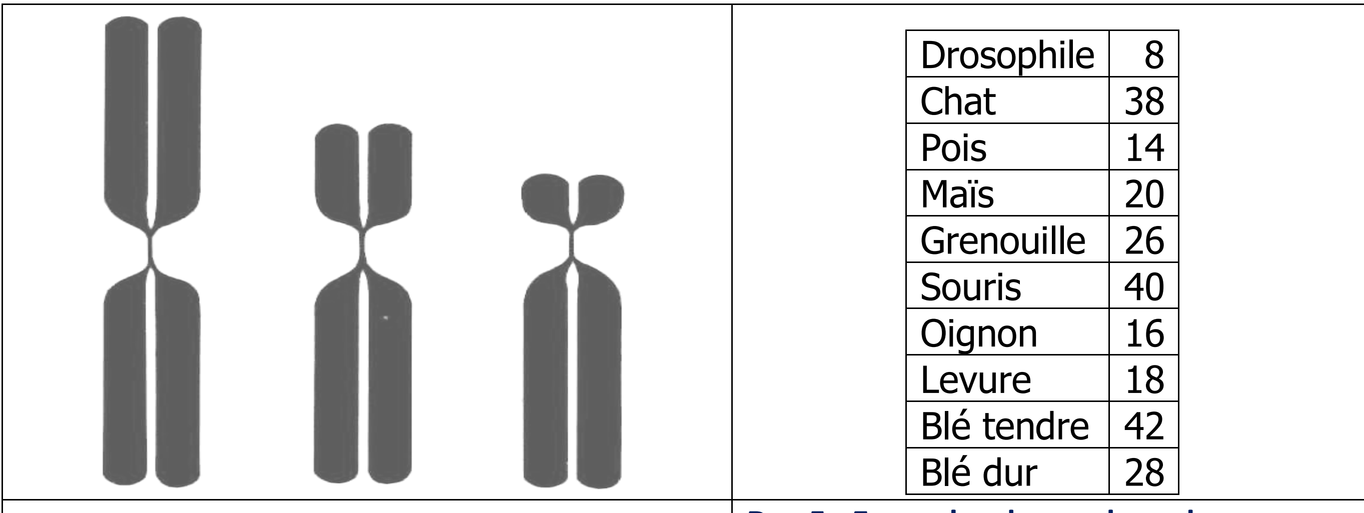
Doc 1 : Réalisation d'un caryotype



Document 2 : Chromosomes du triton (2n = 24)

.B- Quelles sont les informations que l'on peut tirer du caryotype ?

Document 3 : Caryotype d'un homme (a) ; et d'une femme (b).



Drosophile	8
Chat	38
Pois	14
Maïs	20
Grenouille	26
Souris	40
Oignon	16
Levure	18
Blé tendre	42
Blé dur	28

Doc 4 : Quelques formes de chromosomes

Doc 5 : Exemples de nombres de chromosomes chez certaines espèces

Activités :

1- Donnez une définition du caryotype.

2-Que peut – on déduire du doc 4 ?

3- Quelle informations peut on tirer du caryotype ?

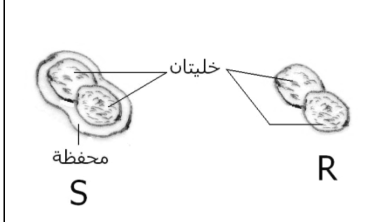
4- Bilan.

Unité 5 : L'ADN, support de l'information génétique

Un chromosome est un élément microscopique constitué de molécules d'ADN et de protéines. Sur le plan quantitative, les protéines sont de loin les plus importantes. Mais l'ADN est le support de l'information génétique.

- Comment a-t-on mis en évidence pour la première fois la nature chimique du support de l'information génétique ?

.A- Les expérience de la transformation bactérienne.



Les pneumocoques sont des bactéries responsables de la pneumonie (infection pulmonaire). On distingue les bactéries de la forme S qui possède une capsule, et les bactéries de la forme R qui en sont dépourvues.

L'absence ou la présence de la capsule est un caractère héréditaire qui se conserve à travers les divisions cellulaires.

Les cellules bactériennes qui sont issues d'une même cellule originelle constituent un clone.

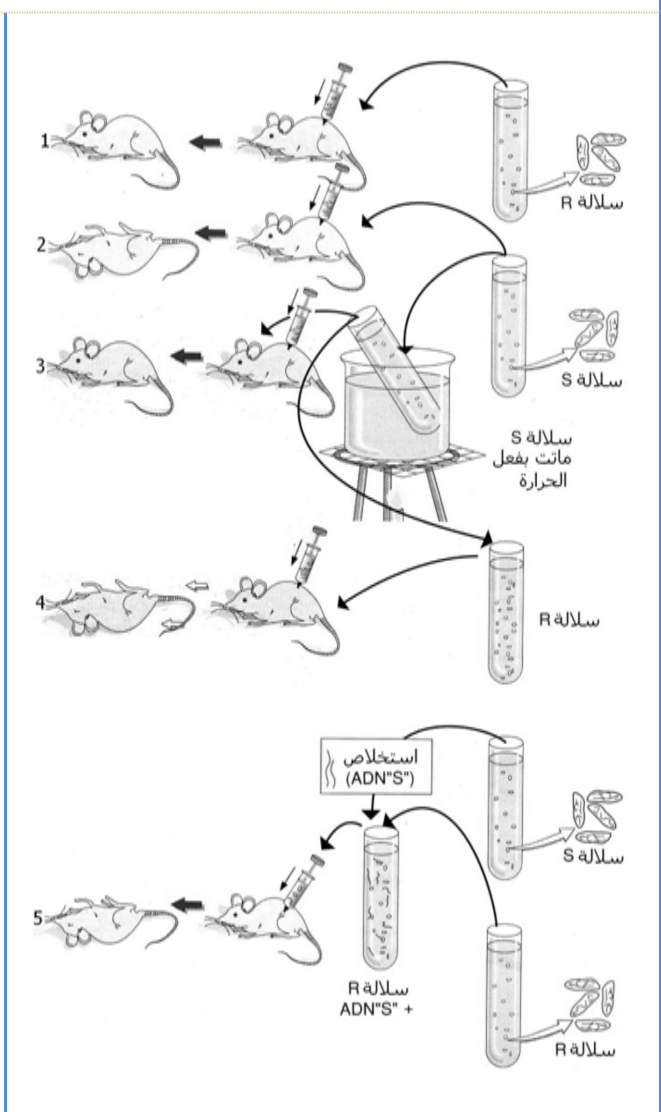
Expérience de Griffith (1928) :

- *Injection des bactéries R à des souris → Les souris restent intactes.*
- *Injection des bactéries S à des souris → Les souris meurent.*
- *Injection des bactéries S tuées → Les souris restent intactes.*
- *Injection des bactéries R vivantes et de S tuées → Les souris meurent de pneumonie ; et on trouve dans leur sang des bactéries S vivantes.*

Expérience de Mac Carty et Avery (1944) :

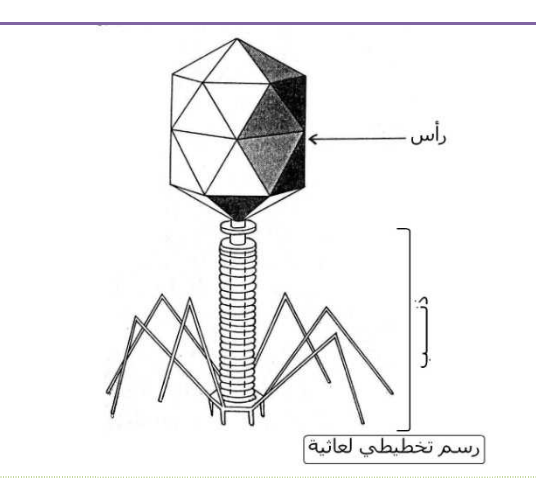
Cherchant l'élément qui provoque la transformation bactérienne ; On a effectué une autre série d'expériences :

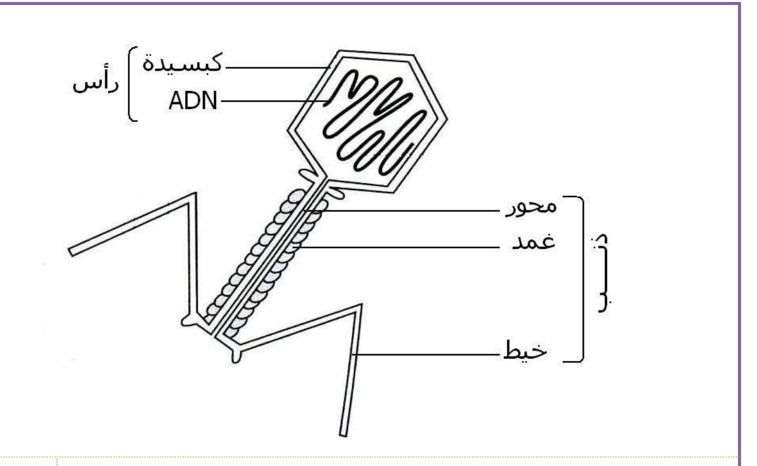
- *Injection des bactéries R vivantes et de S broyées → Les souris meurent de pneumonie ; et on trouve dans leur sang des bactéries S vivantes*
- *Injection des bactéries R vivantes et de l'ADN isolé à partir de S → Les souris meurent de pneumonie ; et on trouve dans leur sang des bactéries S vivantes*



Doc1 : Expériences de Griffith – Avery/Mac Carty

.B- La multiplication des virus

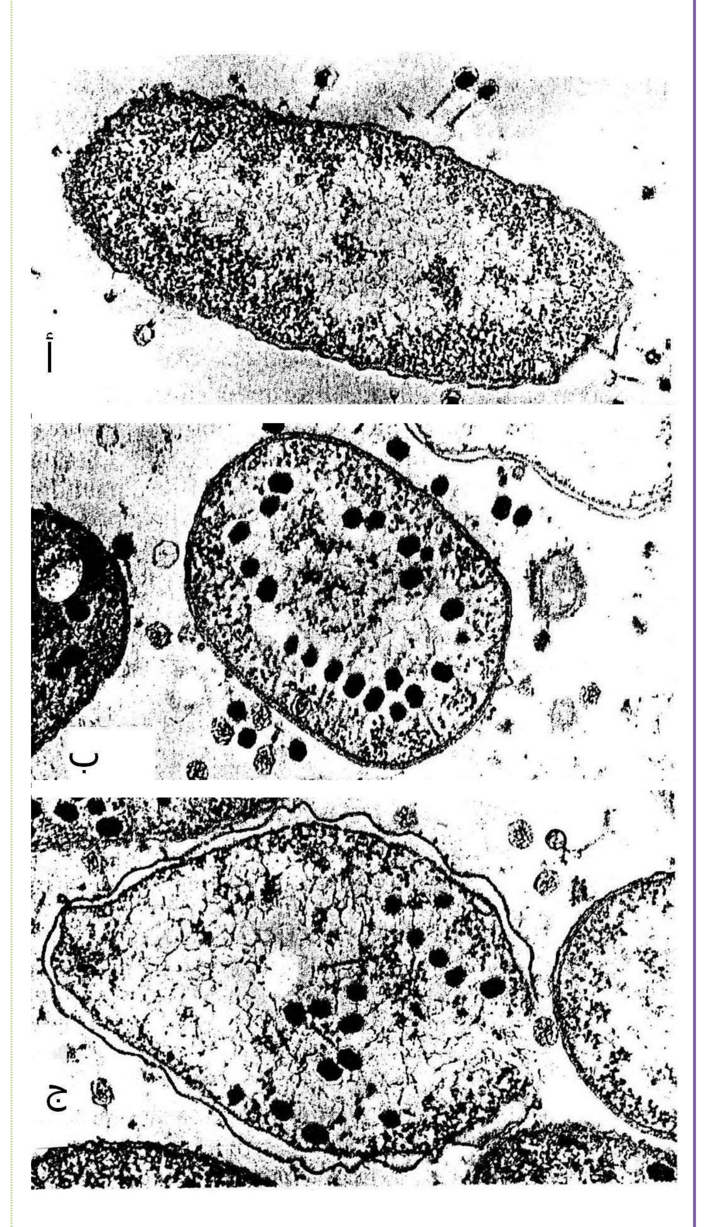




Données sur les virus :

- *Les virus constituent les formes les plus simples des êtres vivants. Leur diamètre ne dépasse pas 1mm. Ils ne disposent pas d'organites qui leur permettraient de croitre et se diviser d'une façon autonome. Ainsi ils doivent obligatoirement parasiter une cellule animale ou végétale ou bactérienne.*
- *Au début du cycle viral ; le virus adhère à la surface de la cellule hôte. Après une certaine période, plusieurs particules virales apparaissent à l'intérieur de la cellule qui éclate et en libère un grand nombre. Le cycle se répète lorsque les nouvelles particules virales parasitent d'autres bactéries.*
- *Le virus se constitue généralement d'une capsule protéique qui renferme un acide nucléique, ADN ou ARN*
- *L'image ci-contre montre les étapes du cycle d'un bactériophage ; un virus qui parasite la bactérie « Escherichia coli ».*

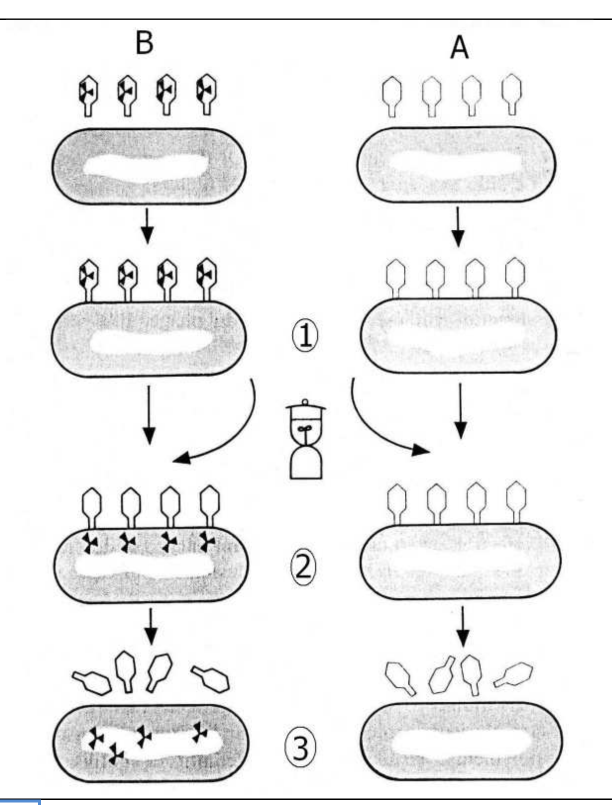
.a- Phase d'infection. .b- Multiplication du virus à l'intérieur de la cellule hôte. .c- éclatement de la cellule hôte.



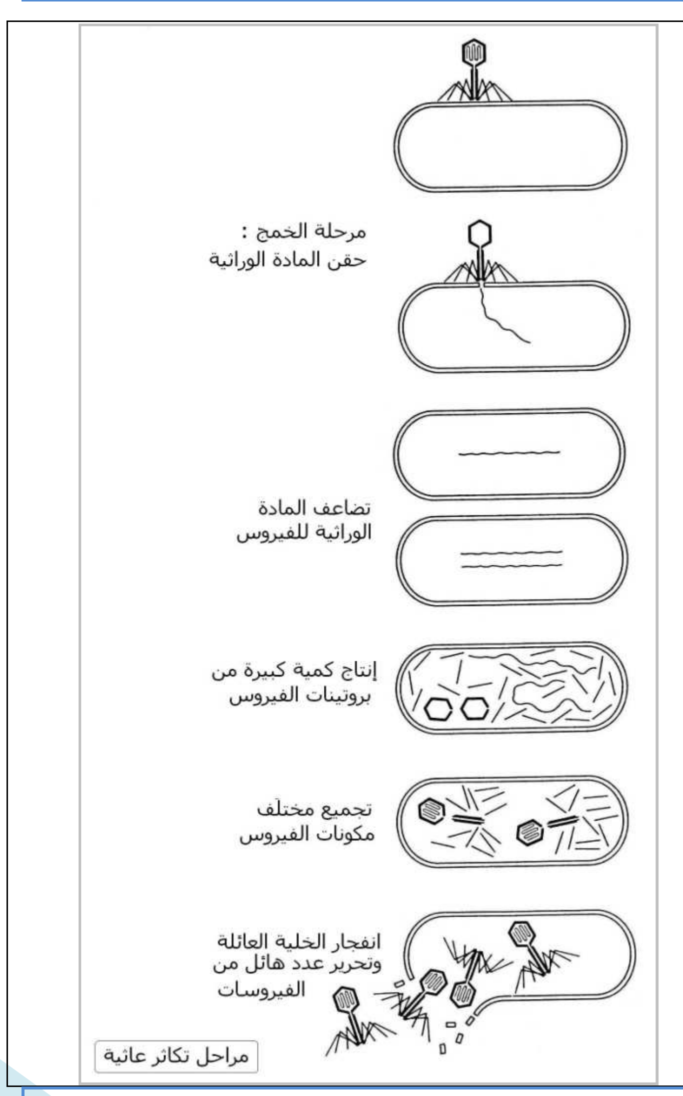
Doc 2 : Multiplication des virus ; Exemple d'un bactériophage

Expérience de Hershey et Chase (1952) :

- *Dans deux expériences séparées ; on a marqué d'une part les protéines de la capsule du bactériophage avec du ^{35}S radioactif. D'autre part, on a marqué l'ADN avec du ^{32}P radioactif.*
- *On laisse les particules virales en contact avec les bactéries pour un certain temps. Puis on agite pour séparer les bactéries de ce qui reste des particules virales.*
- *Dans le cas de ^{32}P, la radioactivité apparait au sein des bactéries. Dans le cas de ^{35}S la radioactivité est liée aux restes des particules virales.*



Doc 3 : Expérience de Hershey et Chase (1952)



Doc 4 : Etapes de la multiplication d'un phage

Activités :

1- A partir du Doc 1, donnez une hypothèse pour expliquer la virulence de la forme S des pneumocoques.

2- Comment peut on prouver que la transformation bactérienne concerne un caractère héréditaire ?

3- Interprétez les résultats de l'expérience de Griffith et de l'expérience d'Avery.

4- A partir du Doc 3, proposez deux hypothèses à propos de ce qui se passe durant la phase d'infection.

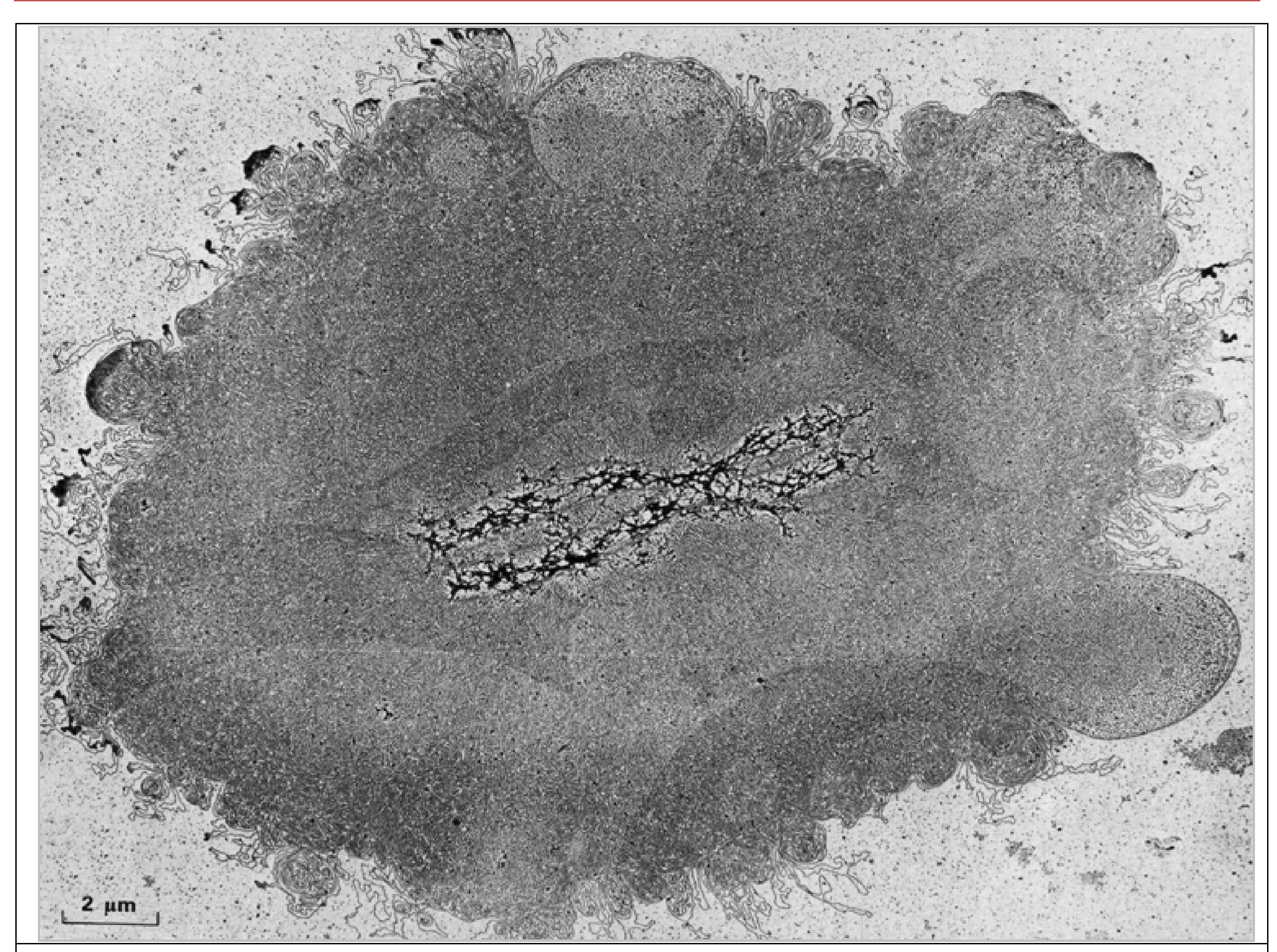
5- Que déduiriez-vous des résultats de l'expérience de Chase ?

6- BILAN

Unité 6 : Structure du chromosome des eucaryotes.

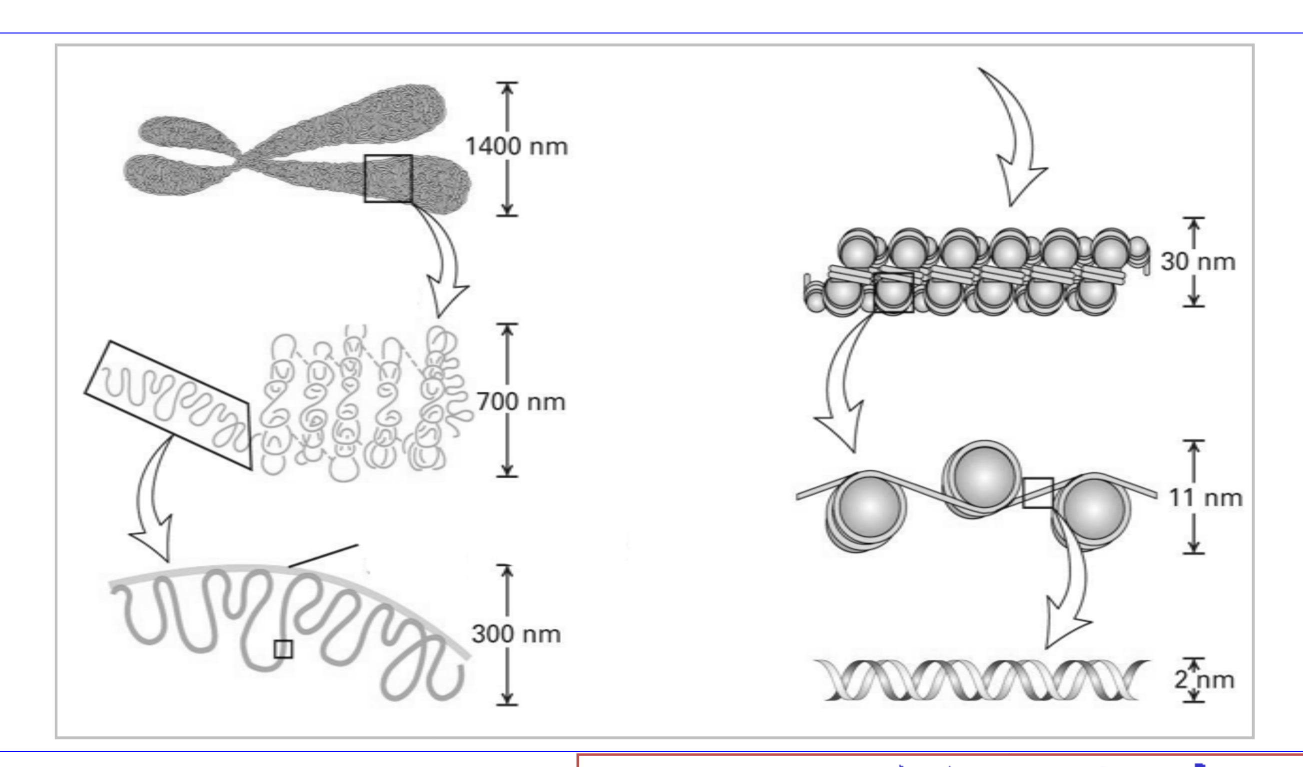
Dans le test de Feulgen, le réactif de Schiff se recolore en rouge en présence d'ADN. Ainsi ce test révèle la présence d'ADN au niveau des chromosomes ; bien que les protéines soient les constituants du chromosome les plus abondants.

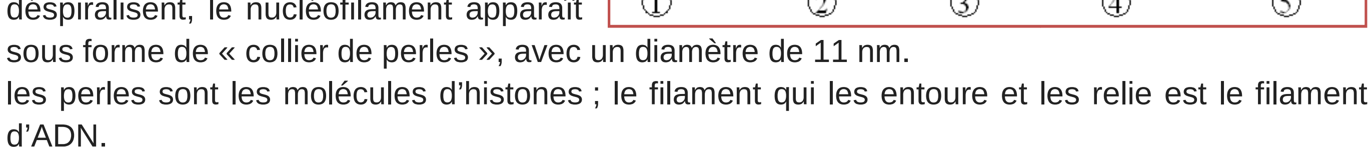
- Quelle est la structure du chromosome métaphasique des eucaryotes ?
- Comment évolue cette structure au cours de la transition mitose / interphase et vice-versa ?



Le traitement du chromosome métaphasique par des enzymes spécifiques, qui hydrolysent les protéines, permet de libérer un long filament d'ADN. Ce filament entoure un « squelette » constitué de protéines non hydrolysées. Les protéines hydrolysées s'appellent **les Histones**.

Doc 1 : Traitement du chromosome métaphasique par des enzymes qui hydrolysent les Histones.





D'après les observations effectuées en microscopie électronique, les chromosomes durant l'interphase prennent la forme de filaments de 30 nm de diamètre ; ce sont les **nucléofilaments.**

Traitées par des substances qui les déspiralisent, le nucléofilament apparaît sous forme de « collier de perles », avec un diamètre de 11 nm.
les perles sont les molécules d'histones ; le filament qui les entoure et les relie est le filament d'ADN.

Durant la prophase, les nucléofilaments **se condensent** pour avoir un diamètre de 300 nm ; et se **spiralisent** pour avoir un diamètre de 700 nm. C'est le diamètre d'une chromatide.

Doc 2 : Relations structurales entre les différents constituants du chromosome.

Activités :

1- Précisez les constituants du chromosome (Doc1).

2- Quelle est la propriété de la molécule d'ADN que montre les données du Doc1 ?

3- Quel est le rôle des histones ?

4- Représenter la figure du Doc1 par un schéma.

5- Comment le nucléofilament se transforme –t-il en chromosome ; et vice-versa ?

6- BILAN

Unité 7 : Structure de la molécule d'ADN.

La molécule d'ADN est une macromolécule.
A l'instar des protéines qui sont des polymères d'acides aminés ; et des polyholosides qui sont des polymères d'oses ; la molécule d'ADN est un polymère de nucléotides.

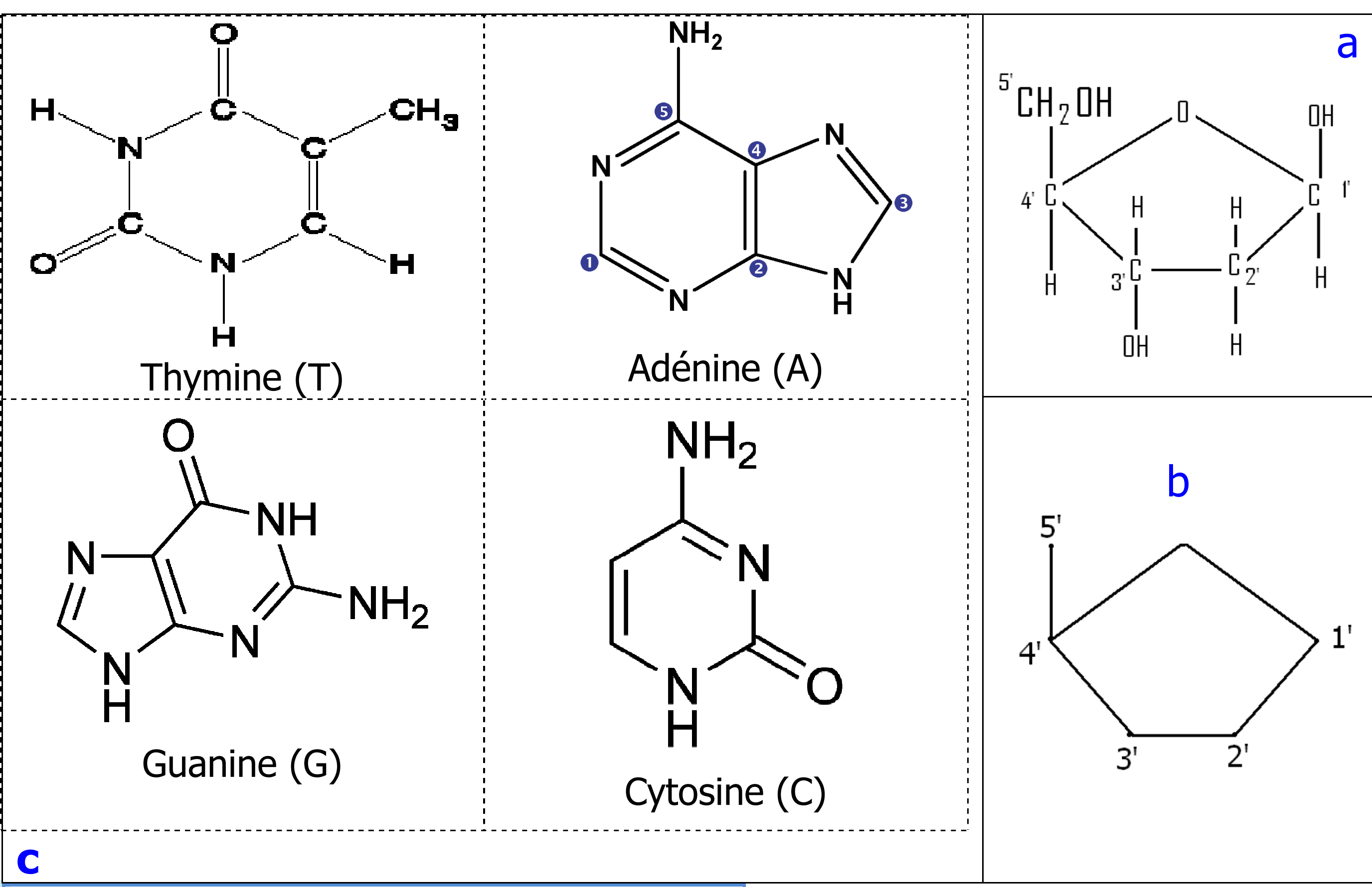
- Quelle est la structure des nucléotides ?
- Comment les nucléotides s'organisent- ils pour donner la structure de la molécule d'ADN ?

L'hydrolyse enzymatique montre que l'ADN ou « acide désoxyribonucléique » est un enchaînement de nucléotides. Le nucléotide lui-même peut-être hydrolysé, pour donner trois constituants : une base azotée, un sucre, le désoxyribose et l'acide phosphorique.

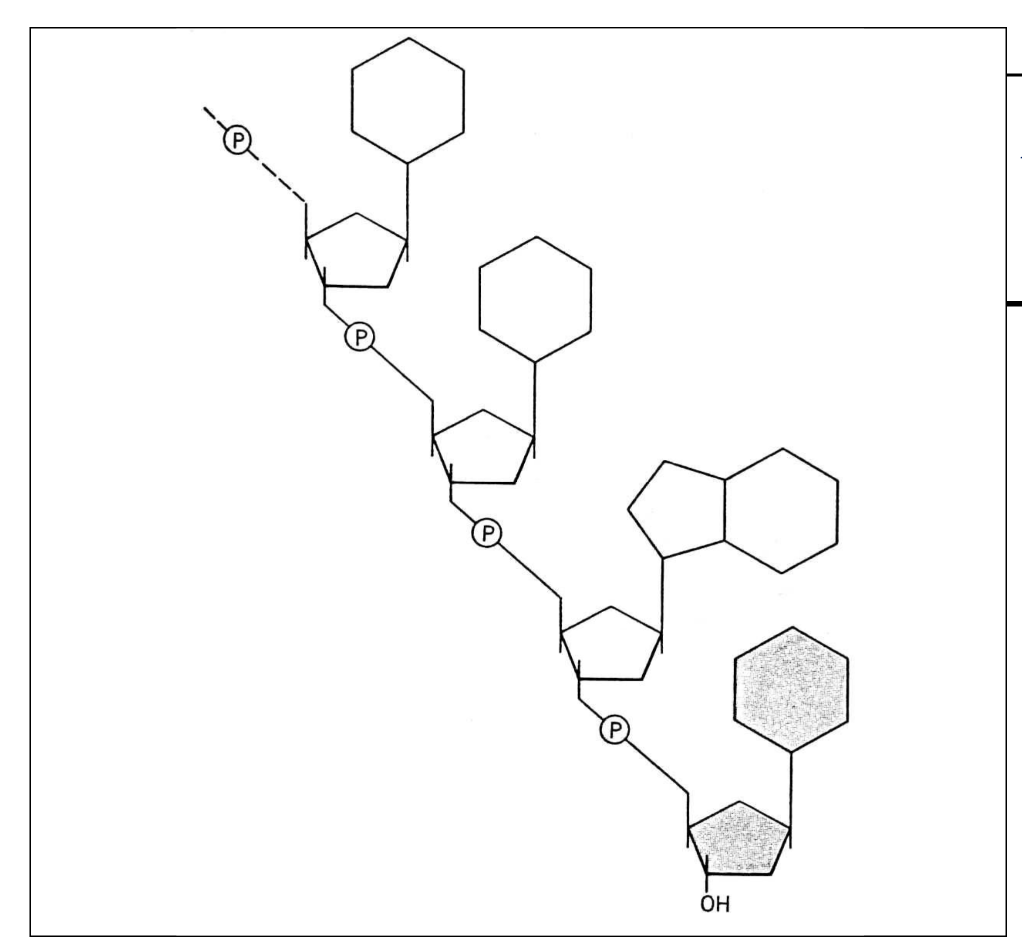
Le désoxyribose est un pentose $C_5 H_{10}O_4$; sa formule développée est représentée par la figure (a) du Doc 2. Les atomes de carbone sont numérotées 1' ; 2' ; 3' ; 4' et 5'. Le schéma (b) est une représentation simplifiée.

L'acide phosphorique H_3PO_4. On le symbolise avec (P)
*La base azotée : C'est elle qui varie d'un nucléotide à l'autre. Il y en a quatre types : l'adénine **A** ; la guanine **G** ; et la cytosine **C**.*

Doc 1 : Les constituants de la molécule d'ADN

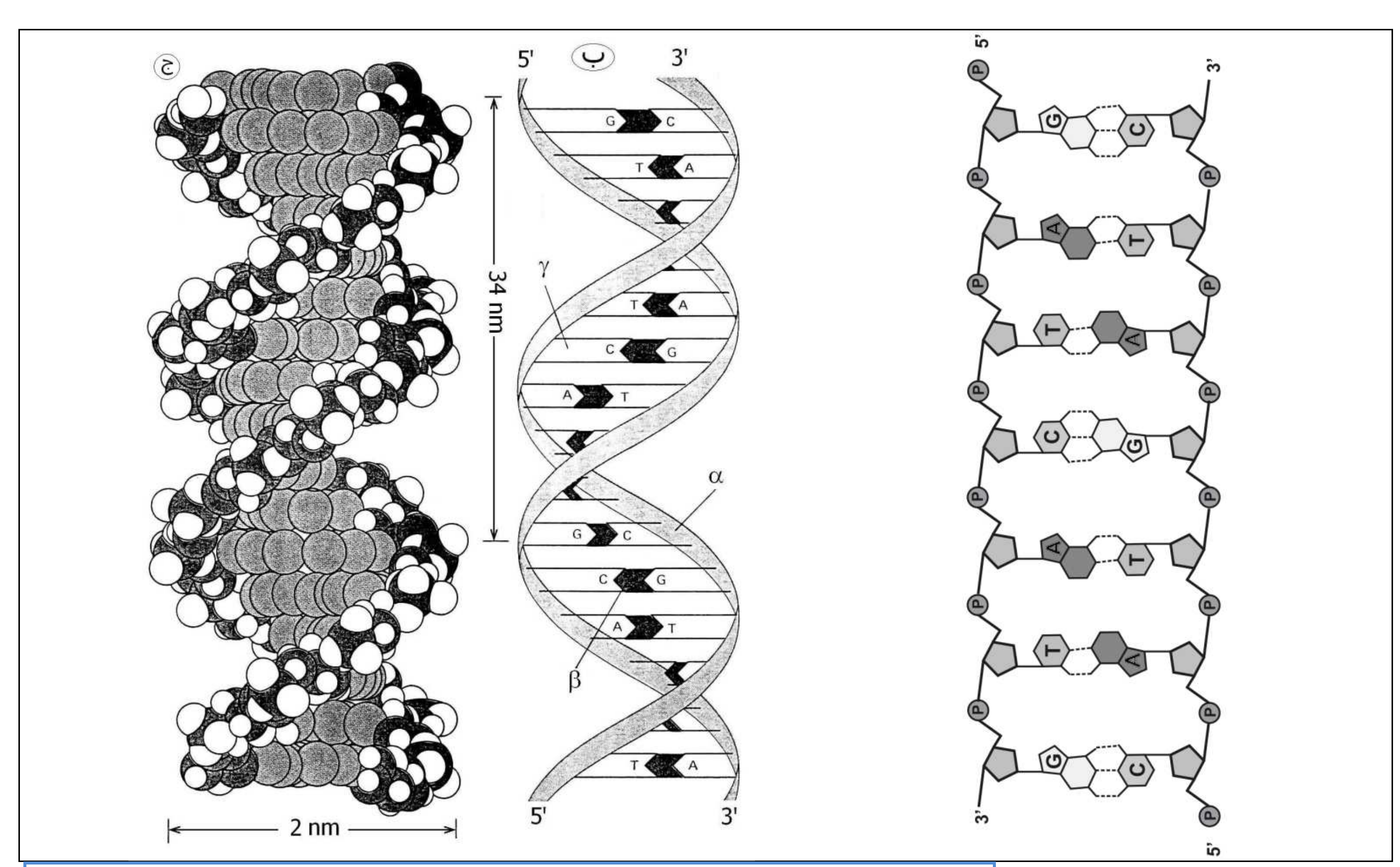


Doc 2 : Le désoxyribose et les bases azotées



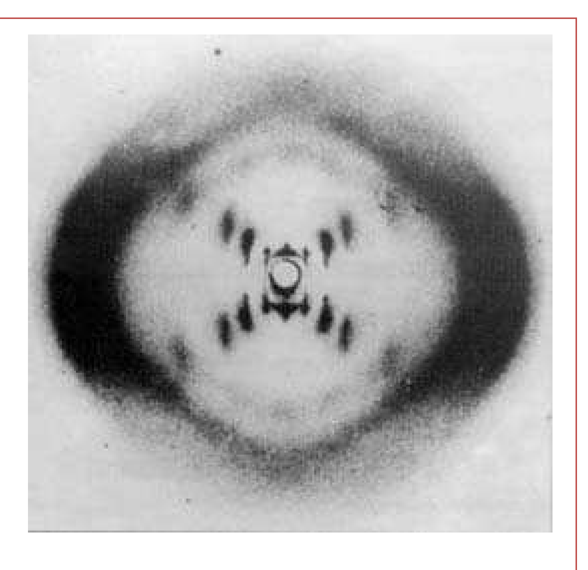
Doc 3 : Agencement des nucléotides dans la molécule d'ADN

.B- Le modèle de Watson et Crick.



Doc 4 : Des manières différentes pour représenter l'ADN.

L'imagerie aux rayons X à montré que l'ADN est un cylindre de 2nm de diamètre.



D'autres données ont permis de déduire que la molécule d'ADN et une double hélice. Chaque hélice est une chaine de nucléotides. Les bases azotées qui sont en vis-à-vis sont liées par des « liaisons hydrogène », liaisons qui peuvent se rompre facilement si on augmente la température par exemple. Les liaisons hydrogène permettent néanmoins de relier les deux chaines l'une à l'autre. On a toujours A devant T (deux liaisons) ; et G devant C (trois liaisons).

Le chromosome métaphasique est constitué de deux molécule d'ADN ; une dans chaque chromatide.

Les deux chaînes nucléotidiques sont antiparallèles. C'est-à-dire l'extrémité 3' de l'une correspond à l'extrémité 5' de l'autre.

Doc 5 : Le modèle de Watson et Crick

Activités :

1- Légendez la figure du Doc3, précisez les carbones terminaux ; et coloriez chaque nucléotide avec une couleur différente.

2- Précisez les rôles respectifs des carbones 3' ; 5' et 1' du désoxyribose. (Doc3)

3- Quel que soit l'origine de l'ADN, l'analyse chimique montre que les proportions suivantes sont toujours respectées : %A = %T ; %G = %C. Comment expliqueriez vous ce là ?

4- Que représentent les lettres α ; β ; γ (Doc4) ?

5- Quelle est la particularité du modèle (c) (Doc4) ?

6- BILAN.

Unité 8 : Evolution de la quantité d'ADN dans la cellule au cours du cycle cellulaire / Cycle chromosomique

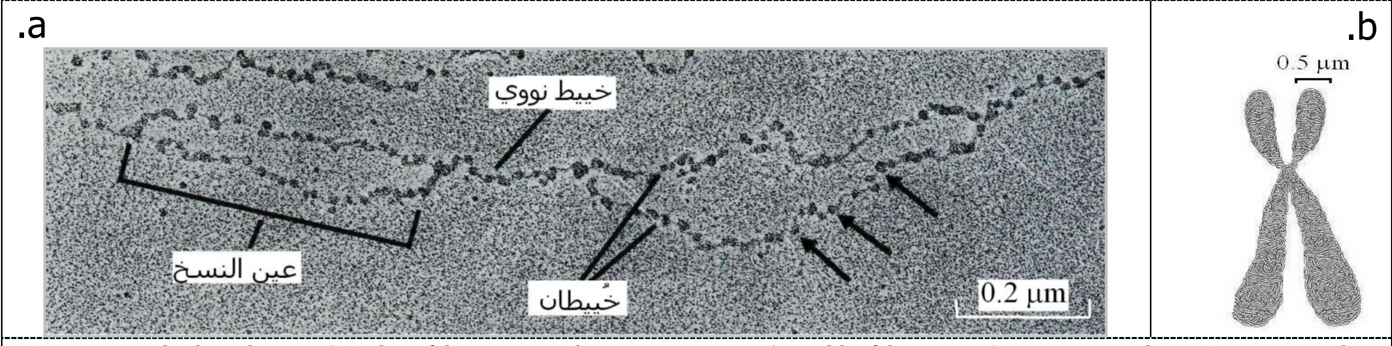
La quantité d'ADN dans la cellule varie en fonction des phases du cycle cellulaire. Parallèlement, l'aspect des chromosomes varie aussi.

- *Peut-on établir un lien entre l'évolution de la quantité d'ADN et l'évolution de l'aspect des chromosomes ?*
- *Comment ces évolutions traduisent- elles la transmission de l'information génétique de la cellule mère aux cellules filles, au cours de la mitose ?*

Les cellules qui constituent un organisme diploïde, et qui appartiennent à la même phase du cycle cellulaire, contiennent la même quantité ADN (hormis les cellules sexuelles). Cette quantité est propre à chaque espèce.
L'interphase est subdivisée en trois périodes G1, S et G2.

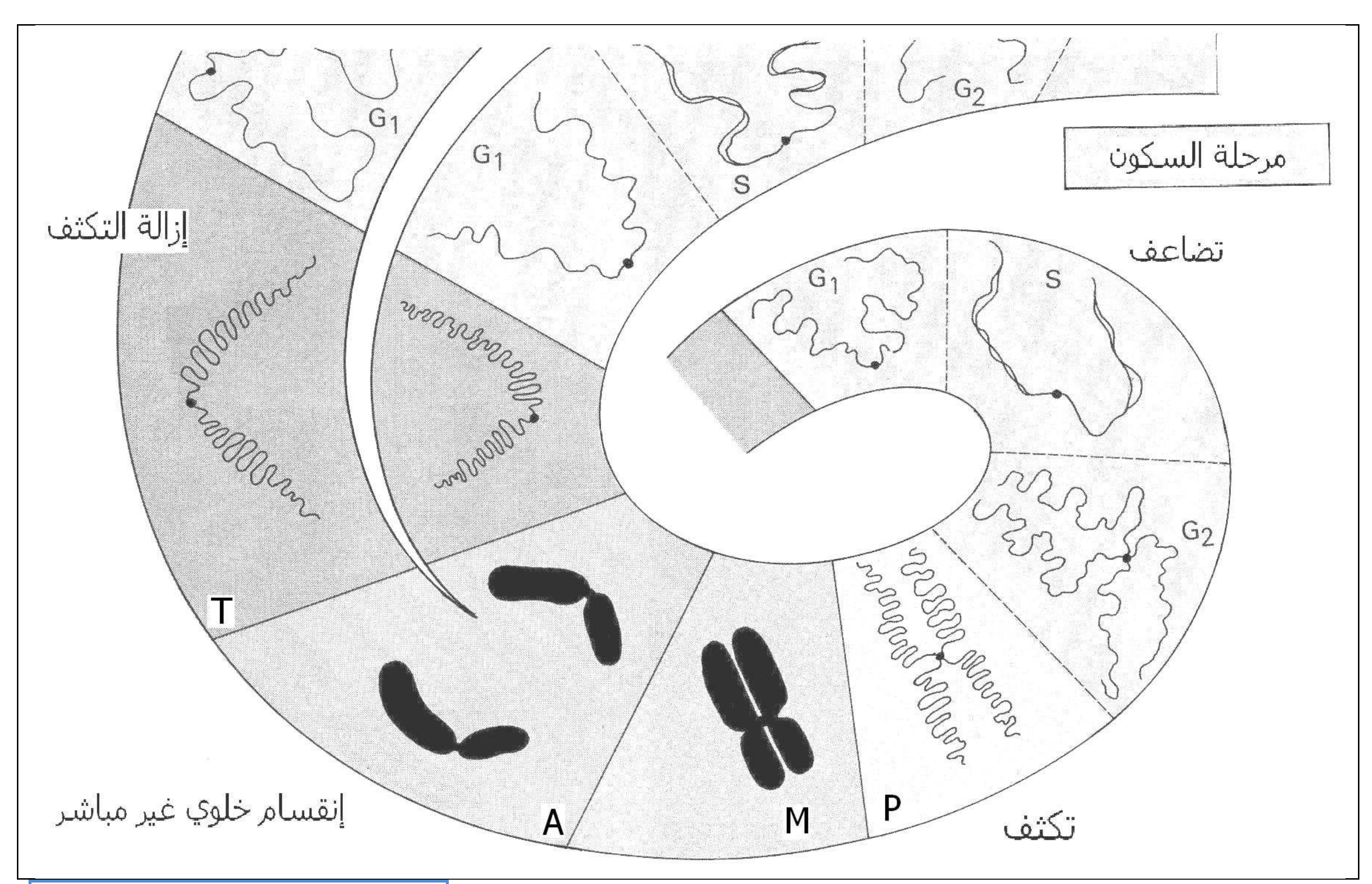
كمية ADN
(وحدات اصطلاحية)
2q
q
G1
S
G2
مرحلة السكون
الانقسام غير المباشر
الزمن
تطور كمية ADN في الخلية خلال الدورة الخلوية

Le graphique ci-contre représente l'évolution de la quantité d'ADN dans une seule cellule au cours du cycle cellulaire. **Document 1**



*Au cours de la phase **G1**, les filaments chromatiniens (nucléofilaments) sont simples. Au cours de la phase **S**, on peut observer en microscopie électronique des ouvertures appelées « **yeux de réplication** ». Durant la phase **G2**, les nucléofilaments sont dédoublés. L'électronographie **a** montre l'observation du nucléofilament lors de la phase **S**. Le schéma **b** représente un chromosome métaphasique.*

Doc 2 : Entre la mitose et l'interphase, le chromosome subit une évolution importante



Doc 3 : Cycle chromosomique

Activités :

.1- Préciser la relation entre l'évolution de la quantité et le nombre des molécules ADN, et l'aspect des chromosomes au cours du cycle cellulaire.

.2- Quel est l'événement important qui se déroule au cours de la phase S ?

.3- A partir du cycle chromosomique, montrer comment l'information génétique se transmet au cours du cycle cellulaire.

Unité 9 : Mécanisme de la duplication de l'ADN.

Avant l'élucidation du mécanisme de la duplication de l'ADN, les chercheurs ont proposé deux modèles sous forme d'hypothèses, le modèle conservatif et le modèle semi-conservatif.

- Quelle est la signification de ces deux modèles ?
- Comment les données expérimentales ont-elles permis de valider la bonne hypothèse ?

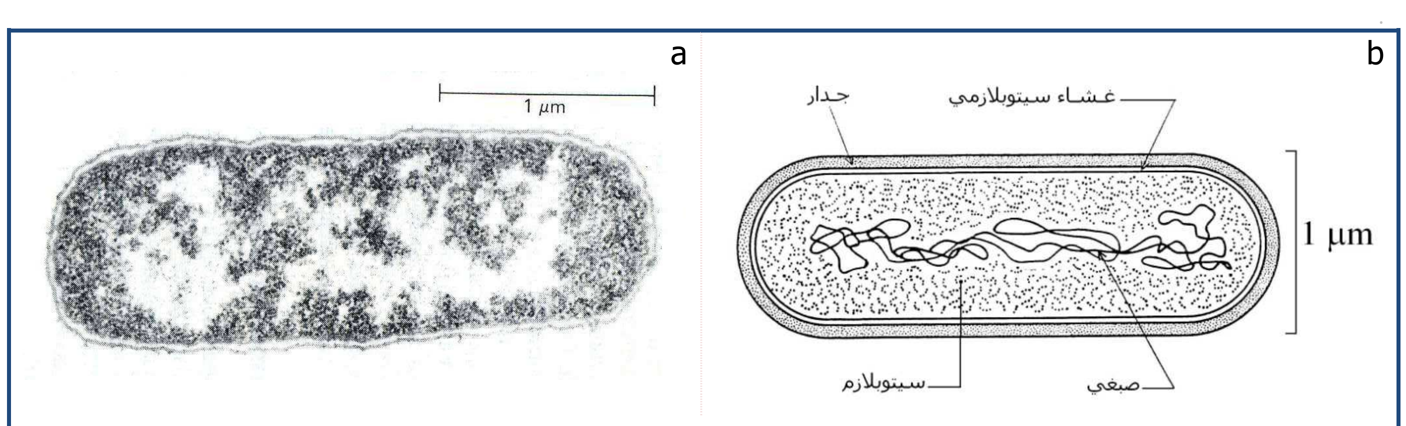
.A- Le modèle conservatif et le modèle semi-conservatif.

Pour la réplication de l'ADN, trois modèles ont été proposés :

- **La réplication conservative** : A partir d'une molécule d'ADN bicaténaire "mère", on forme une nouvelle molécule d'ADN bicaténaire totalement néoformée.
- **La réplication semi-conservative** : Chacun des deux brins de la molécule d'ADN bicaténaire "mère" sert de matrice pour la formation d'un nouveau brin complémentaire. Chaque nouvelle molécule "fille" ne conserve donc que la moitié de la molécule "mère".
- **La réplication dispersive** : Aucun brin ne reste intact, les nouveaux brins sont constitués à la fois d'ADN de la molécule mère et d'ADN néoformé.

Doc 1 : Les trois hypothèses pour décrire le mécanisme de la réplication de l'ADN

.B- La fission binaire chez Escherichia Coli.

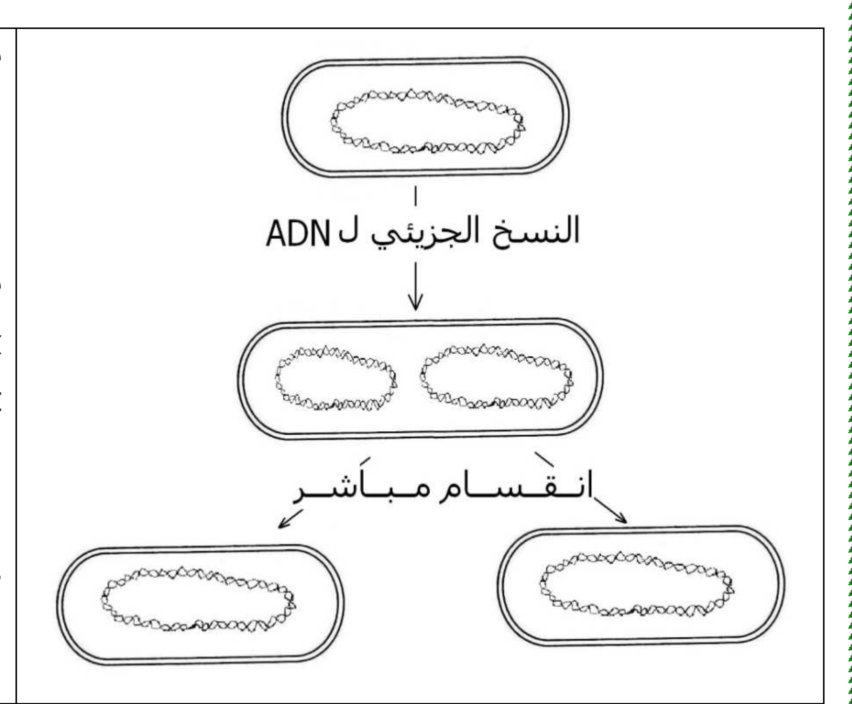


Les bactéries appartiennent aux procaryotes. Un **procaryote** est un être vivant dont la structure cellulaire ne comporte pas de noyau, et presque jamais d'organites cellulaires membranés. Un chromosome circulaire, constitué d'une molécule d'ADN, baigne directement dans le cytoplasme.

.a- Electronographie de la bactérie ***Escherichia coli***

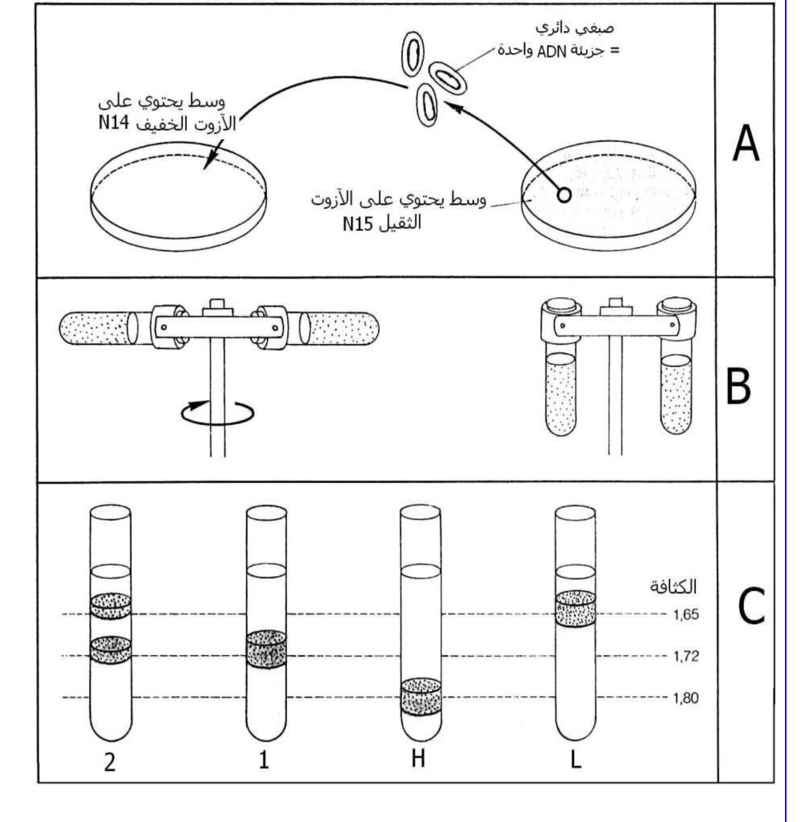
.b- Schéma d'interprétation.

.Document 2 :

Les bactéries en tant que procaryotes, se divisent par un processus autre que la mitose. Il s'agit de la **fission binaire**. Avant toute division, la bactérie duplique son ADN. Ainsi les deux molécules D'ADN se retrouvent chacune dans une cellule fille. La cellule conserve ainsi son information génétique à travers les divisions successives.	

Document 3 : La fission binaire

.C- Expérience de Meselson – Stahl :



.**A**- On met des bactéries E-Coli dans un milieu de culture contenant de l'azote lourd ^{15}N. Les bactéries sont ensuite transférées dans un milieu contenant de l'azote normal ^{14}N, où elles séjournent pour une durée qui correspond à une ou deux générations. C'est-à-dire elles effectuent une ou deux divisions.

.**B** - Après son extraction, l'ADN subit la technique de centrifugation. Cette technique permet de séparer les molécules d'ADN selon leur densité. Chaque type de molécules se stabilise à un niveau qui correspond à sa densité. L'ADN est visualisé par les rayons UV.

L'azote est présent dans le milieu de culture sous forme de sels minéraux. Il participe tout d'abord à la synthèse des nucléotides ; et se retrouve enfin dan l'ADN.

.**C**-

.**L** - ADN extrait des bactéries ayant vécu pendant une longue durée dans un milieu ^{14}N

.**H** - ADN extrait des bactéries ayant vécu durant une longue durée dans un milieu ^{15}N

.**1**- ADN extrait des bactéries ayant vécu durant une seule génération dans le deuxième milieu (^{14}N)

.**2**- ADN extrait des bactéries ayant vécu durant deux générations dans le deuxième milieu (^{14}N).

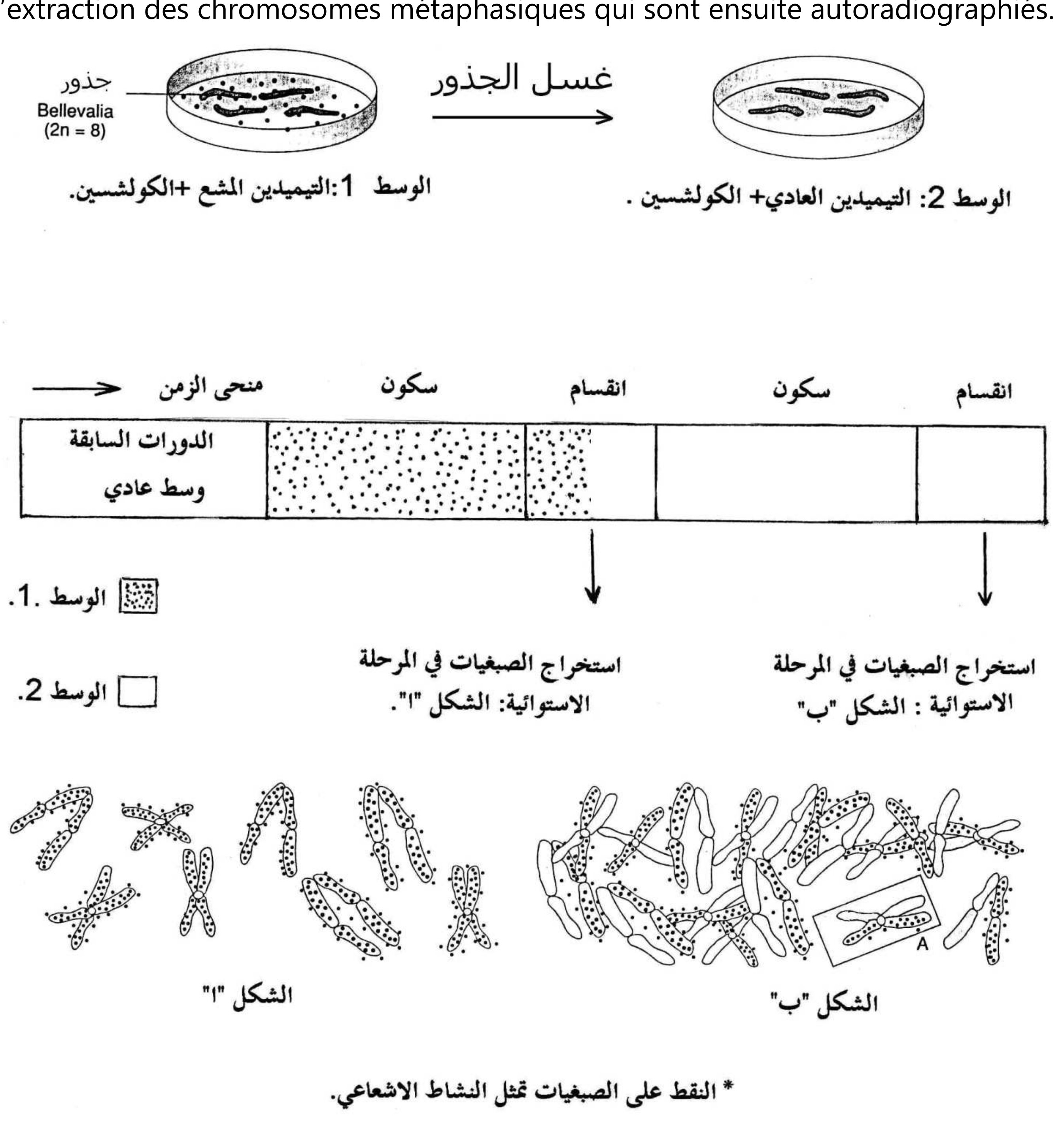
Document 4 :

.D- Expérience de Taylor :

Taylor cultive de jeunes racines de <u>*Bellevalia romana*</u> (plante) sur un milieu contenant un « précurseur marqué » de l'ADN, la thymidine tritiée ($^3H^*$).

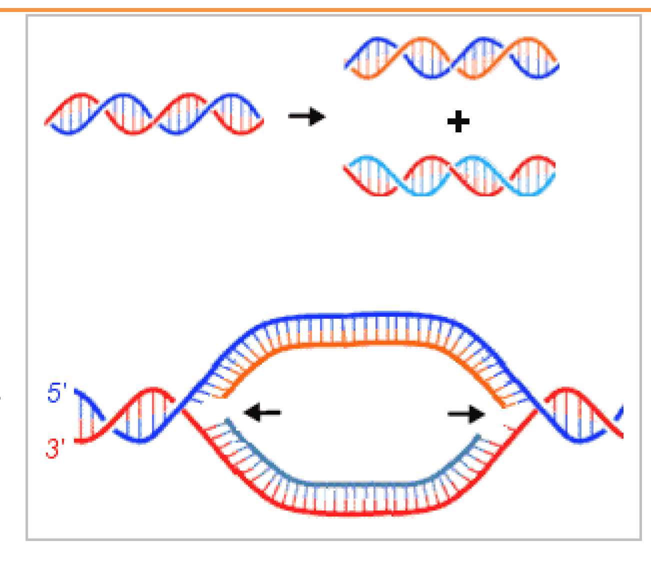
Lorsque les cellules synthétisent de l'ADN, elles incorporent ce précurseur et l'ADN formé est alors radioactif. Cette molécule devient détectable par la technique d'autoradiographie.

Apres le traitement des cellules en division par la colchicine, on procède à l'extraction des chromosomes métaphasiques qui sont ensuite autoradiographiés.



Document 5 :

.E- La duplication de l'ADN et la conservation de l'information génétique.

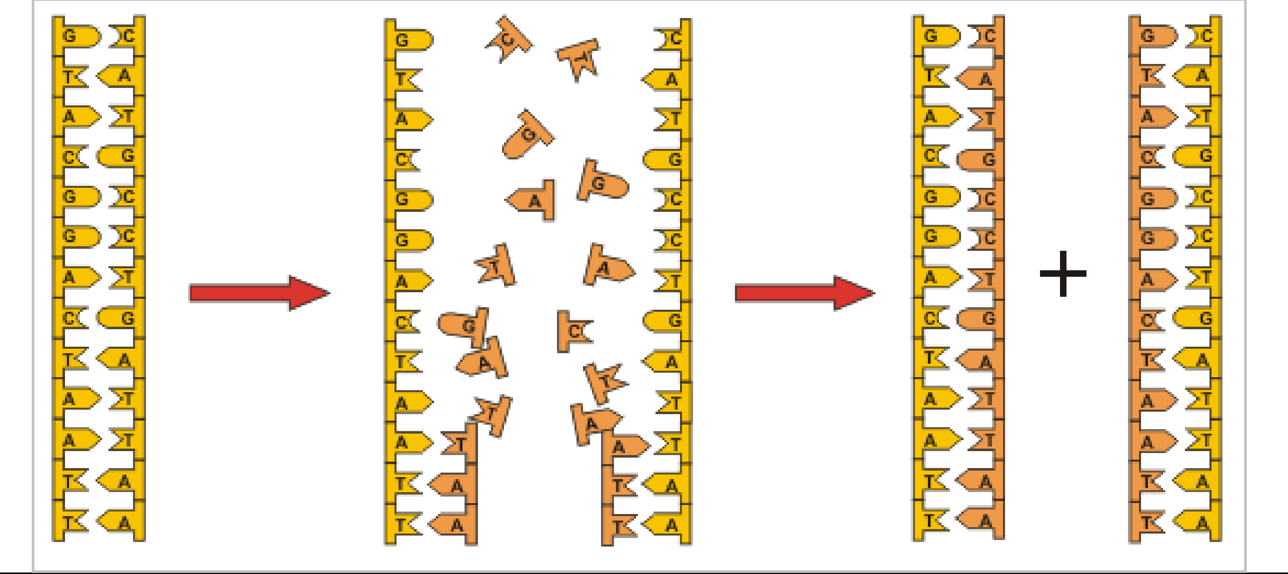


La **réplication** est le processus au cours duquel l'ADN est synthétisé grâce à **l'ADN polymérase** (Enzyme). Ce mécanisme permet d'obtenir, à partir d'une molécule d'ADN, deux molécules identiques à la molécule initiale.

La réplication commence à des endroits précis ; là où les anciens brins se séparent. Les nouveaux brins s'allongent progressivement par l'incorporation des nucléotides libres.

Puisque les deux molécules d'ADN qui résultent de cette réplication comporte chacune un brin **ancien** et un brin **néoformé** ; le processus est dit **semi-conservatif**.

Le nucléoplasme contient assez de nucléotides libres nécessaires à la réplication.



Document 6 : La molécule d'ADN est une molécule autoréplicative.

Activités :

1- Quelle est l'hypothèse la plus vraisemblable, celle du modèle conservatif ou celle du modèle semi-conservatif ?

2- Interprétez les résultats des expériences de Meselson Stahl et de Taylor ; en déduire la bonne hypothèse.

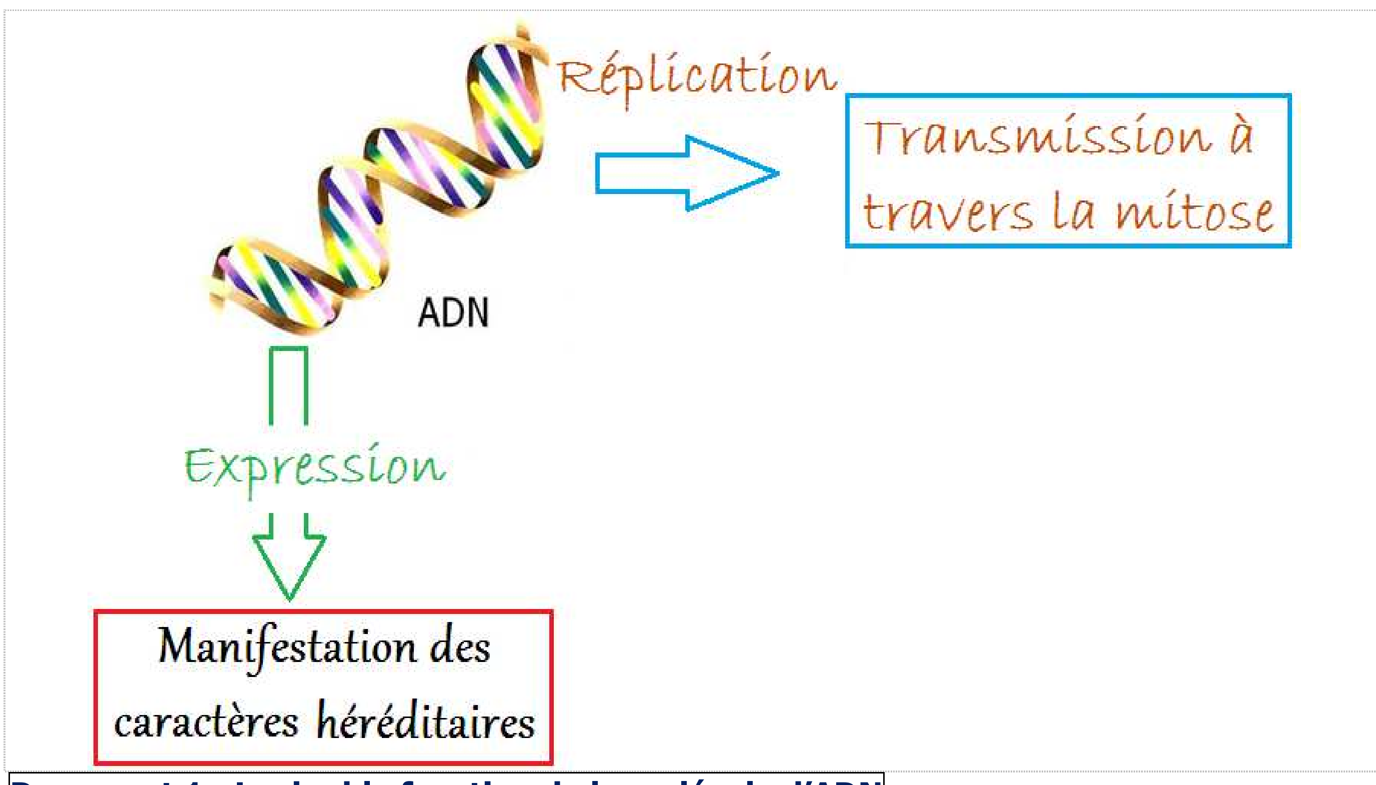
3- À partir du Doc 6, comment peut-on expliquer la conservation de l'information génétique au cours de la réplication de l'ADN ?

4- Bilan

Chapitre II : Expression de l'information génétique

La molécule d'ADN est le support de l'information génétique. C'est-à-dire l'ensemble des informations qui déterminent tous les caractères héréditaires d'un être vivant. La cellule utilise l'information génétique durant toute sa vie. Ainsi, on peut dire que le noyau cellulaire est le centre qui commande toutes les fonctions biologiques de la cellule. L'expression de l'information génétique et le décryptage des informations génétiques qui va permettre aux caractères héréditaires de se manifester.

- **Quels sont les mécanismes de l'expression de l'information génétique ?**



Document 1 : La double fonction de la molécule d'ADN

Plan du Chapitre :

Unité1 : Le gène, l'unité fonctionnelle de l'information génétique.

Unité 2 : La relation gène / protéine / caractère

Unité3 : La synthèse des protéines.

Unité 1 : Le gène, l'unité fonctionnelle de l'information génétique.

Grace à des expériences effectuées sur les bactéries ; on a mis en évidence beaucoup de phénomènes liés à l'information génétique (les mutations par exemple).

- Comment ces expériences ont-elles permis d'élaborer une ébauche du concept de gène ?

.A- Des informations sur les cultures bactériennes

Les bactéries peuvent proliférer dans un milieu de culture liquide, contenu dans un tube à essai **(a)**. Chaque cellule peut donner un clone par **fission binaire**. Les clones restent mélangés dans le tube à essai.

Le milieu de culture peut aussi être gélosé ; c'est-à-dire mélangé avec une substance qui lui profère une certaine viscosité.

Sur un milieu gélosé (boite de Petri **'b'**), on peut verser une suspension bactérienne. Les bactéries se déposent à la surface du milieu ; et chaque bactérie reste fixée à sa place.

Après un certain temps, chaque bactérie donne lieu à un clone, qui apparaît à l'œil nu sous forme d'une tache. Ainsi le milieu gélosé permet d'isoler les différents clones.

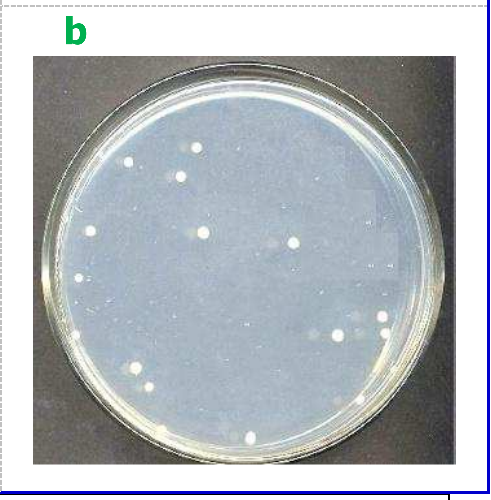
Lorsque les clones son très nombreux, ils forment un tapis continue à la surface du milieu de culture.

Ce type de manipulation est effectué dans un environnement stérile ; pour empêcher la prolifération des micro-organismes étrangers au milieu expérimental.

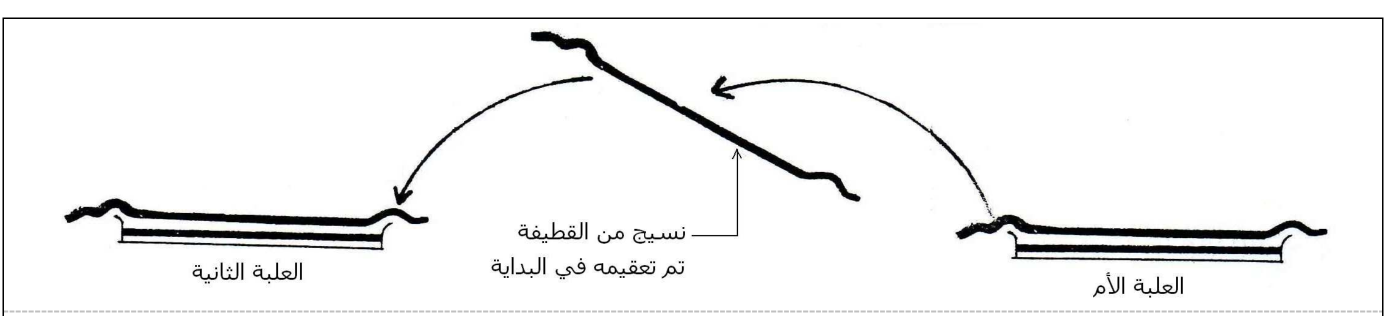
a



b



Doc 1 : Les cultures bactériennes dans des tubes à essai et dans des boites de Petri



La boîte mère contient une colonie bactérienne sous forme de clones isolés, ou sous forme de tapis continue.

On applique un tissu stérile à la surface de la boîte mère, et on le dépose ensuite à la surface d'une boîte vierge. Ainsi on a transféré une partie de la colonie bactérienne, de la boîte mère vers la deuxième boîte.

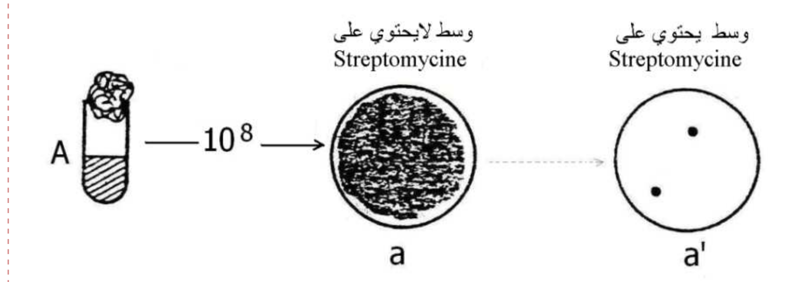
La prolifération des bactéries permet d'avoir des clones visible à l'œil nu.

On peut connaître l'origine de chaque clone, en comparant son emplacement dans la deuxième boite par rapport à la boîte mère.

Document 2 : La technique du repiquage

.B- Les mutations ; approche expérimentale.

*On étale une suspension contenant 10^8 cellules bactériennes dans une boîte de Pétri (**a**). Après l'apparition des clones ; on effectue un repiquage vers une deuxième boîte (**a'**) ; et on attend de nouveau l'apparition des clones.*



Doc3 :

.C- Qu'est ce qu'une mutation ?

Une mutation est une modification de l'information génétique. Les mutations se caractérisent par la rareté, la spontanéité, et la stabilité. La stabilité signifie que les mutations se transmettent à travers un membre indéfini de générations.

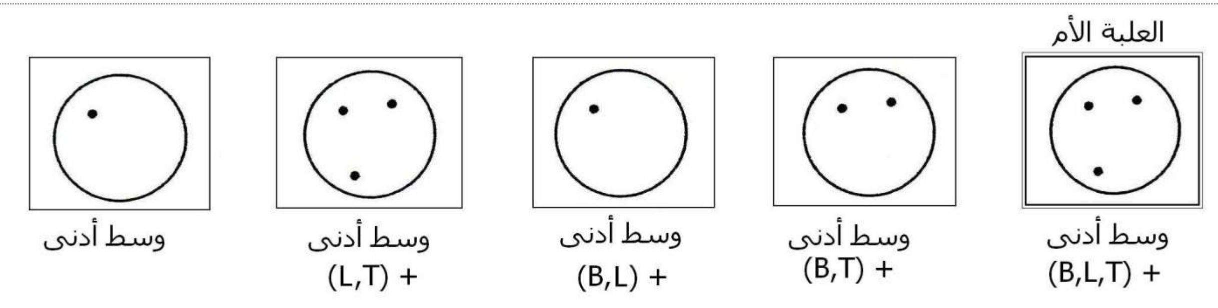
L'expérience représentée par le Doc3, permet d'isoler les bactéries sensibles à l'antibiotique(StrS), et les bactéries résistantes(StrR).

Le caractère « sensibilité- résistance » est un caractère héréditaire qui se manifeste par deux aspects : « résistance » et « sensibilité ». La forme résistante est due à une mutation.

Bien que les mutations sont aléatoires ; elles sont favorisées par plusieurs facteurs, tels que les virus et certaines substances chimiques.

Doc4 :

.D- Les mutations multiples



On étale 10^8 cellules bactériennes d'E. coli sur un milieu de culture complet (boîte mère).

Après l'apparition des clones, on effectue plusieurs transferts vers des boîtes qui contiennent en plus du milieu minimum, les acides aminés suivant : Thréonine (T) ; biotine (B) ; et Leucine (L).

Le schéma ci-dessus montre les conditions et les résultats de l'expérience

Doc5 :

Activités :

*.**1**- Montrez à partir du Doc 3 que les mutations sont rares.*

*.**2**- Comment peut – on expliquer la diversité génétique au sein de la même espèce ?*

*.**3**- Que peut- on déduire de l'analyse des résultats des expériences des mutations multiples (Doc5) ?*

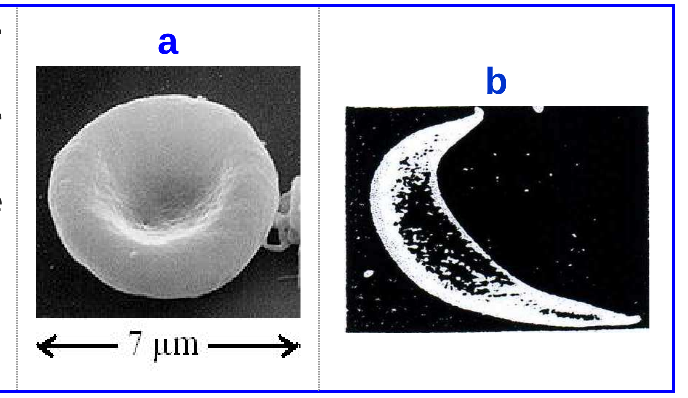
*.**4**- BILAN.*

Unité 2 : La relation : gène / protéine / caractère.

Les caractères héréditaires sont programmés au niveau de l'ADN, sous forme d'unités fonctionnelles dites « **gènes** ».

- **Comment peut –on élucider la relation entre le gène et le caractère héréditaire ?**

L'anémie falciforme est une maladie qui se caractérise par des hématies (globules rouges) malformées**(b)**, qui ont une forme différentes de la forme des hématies normales**(a)**.
La maladie se caractérise aussi par une hémoglobine anormale.
L'hémoglobine est une protéine présente dans les hématies. Elle transporte le dioxygène dans le sang.



Doc4 : L'anémie falciforme

- Un gène est une portion d'ADN responsable d'un caractère héréditaire donné. Il se présente sous forme de plusieurs versions qui peuvent varier d'un individu à l'autre. Ces versions sont appelées «allèles».
- Le gène de l'anémie falciforme possède entre autres, deux allèles. L'allèle responsable de la forme normale, et l'allèle responsable de la maladie.
- Un allèle se transforme en un autre suite à une mutation.

- **ADNa** : Portion de l'allèle responsable de l'hémoglobine normale.
- **ADNs** : Portion de l'allèle responsable de l'hémoglobine liée à l'anémie falciforme.
- **A** : Portion de la séquence des acides aminés de l'hémoglobine normale
- **S** : Portion De la séquence des acides aminés de l'hémoglobine anormale (anémie falciforme).

Doc4 : L'ADN et la protéine ; quelle relation ?

- Dans les années 60 du 19e siècle, Gregor Mendel a considéré que les caractères héréditaires observés chez les êtres vivants, sont liés à des facteurs qui sont hérités du père et de la mère. Ces facteurs, c'est ce que l'on a appelé ultérieurement «**les gènes**».
- Dans les années 40 du 20e siècle, **Beadle** et **Tatum** ont postulé que le gène est un fragment déterminé d'une séquence d'ADN qui **paramètre** la synthèse d'une protéine.

Doc 5 : Aperçu historique sur le concept de gène.

Activités :

.1- Proposez une hypothèse pour expliquer la malformation des hématies chez les personnes atteintes de l'anémie falciforme.

.2- Comparer les séquences nucléotidiques d'ADN et les séquences des acides aminés, chez les personnes normales, et les personnes atteintes de la maladie. Comment expliqueriez-vous ce que vous observez ?

.3- Précisez la relation entre le gène est la protéine.

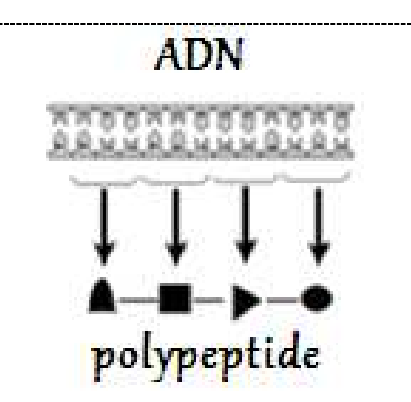
.4- Bilan.

Unité 3 : La synthèse des protéines.

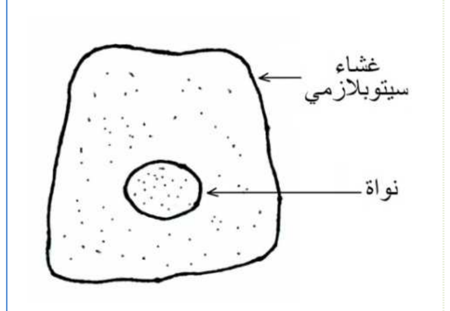
Les caractères héréditaires se manifestent à travers les protéines qui accomplissent les différentes fonctions biologiques. L'expression de l'information génétique correspond donc à la synthèse des protéines.
Chez les eucaryotes, la synthèse des protéines s'effectue en deux étapes. La première au niveau du noyau, la deuxième au niveau du cytoplasme.

- **Quels sont les mécanismes qui interviennent durant ces deux phases ?**
- **Comment l'information génétique est elle décodée durant ces deux phases ?**

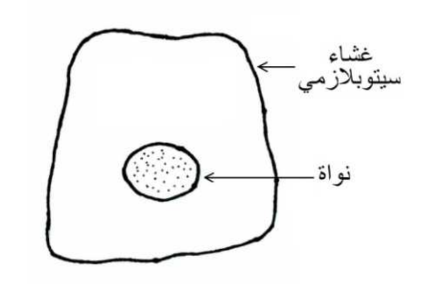
- Une molécule d'ADN comporte plusieurs gènes. Chaque gène a un début et une fin bien déterminés. Chaque gène est une séquence précise de nucléotides.
- Chaque triplet de nucléotides code pour un acide aminé. Donc chaque gène code pour une séquence polypeptidique bien précise (protéine).



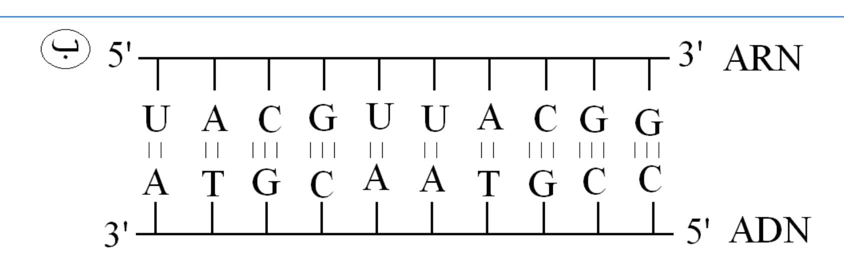
Doc 1 : Nécessité d'un code génétique

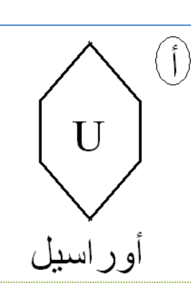


Doc 2a : ***Coloration des cellules avec la pyronine un colorant spécifique de l'ARN***



Doc 2b : ***Coloration des cellules avec le vert de méthyle un colorant spécifique de l'ADN***

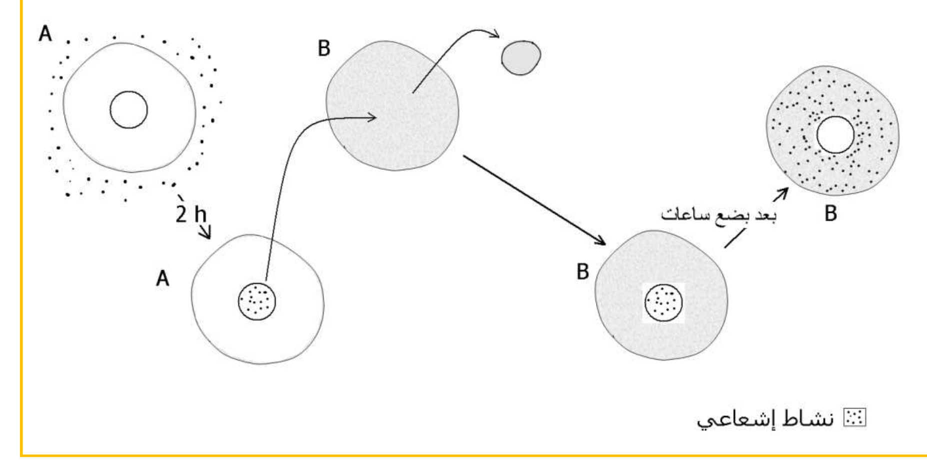




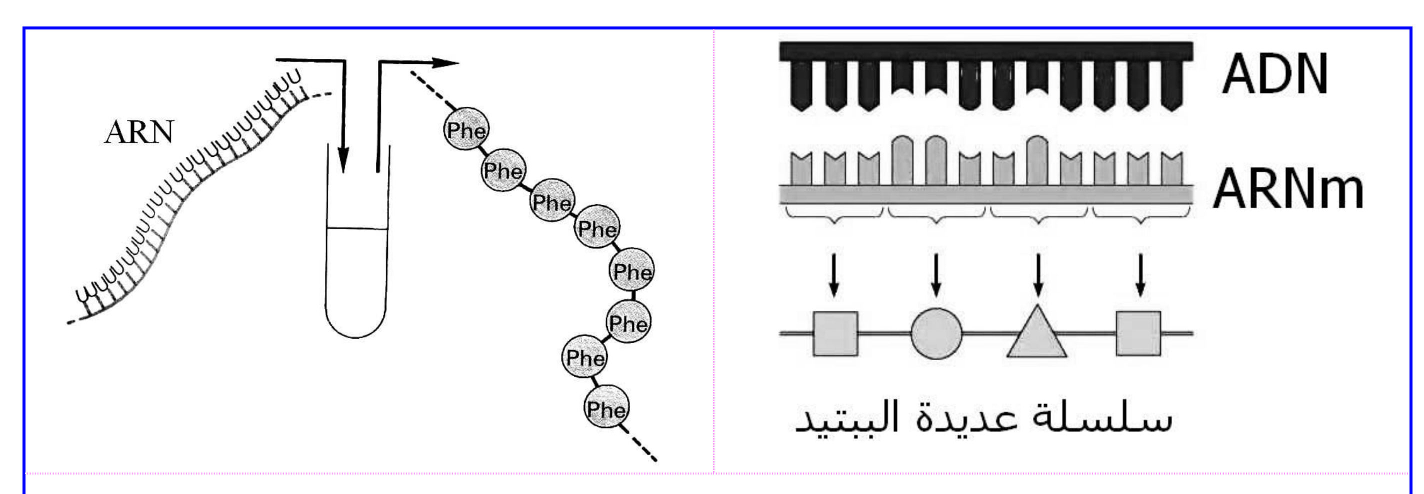
La molécule d'ARN est constituée d'une seul chaine nucléotidique, elle est **monocaténaire** ; à la différence de l'ADN qui est **bicaténaire** (double hélice). D'autre part, les molécules d'ARN sont très courtes par rapport aux molécules d'ADN.
Au niveau des nucléotides, on trouve le ribose ($C_5H_{10}O_5$), au lieu du désoxyribose. Quant aux bases azotées, on a l'adénine (A) ; l'uracile (U) ; la guanine (G) et la cytosine (C). C'est-à-dire U au lieu de T.
La molécule d'ARN se reploie autour d'elle même grâce aux liaisons hydrogène : A avec U (2 liaisons) ; G avec C (3 liaisons).
Lors d'un appariement éventuel entre l'ADN et l'ARN ; les bases azotées sont liées selon le modèle présenté par le schéma (**b**).

Doc 3 : Structure de l'ARN.

- On dispose une cellule d'amibe A dans un milieu contrevenant de l'uracile radioactive (**U***). Après 2 heures, la radioactivité apparait au sein du noyau.
- Ensuite, le noyau radioactif est transféré dans une cellule B **dénoyauté.** Après quelques heures, la radioactivité réapparait dans le cytoplasme.



Doc 4 : Localiser la synthèse de l'ARN



Les protéines peuvent être synthétisé in vitro, en présence d'enzymes spécifiques ; d'une source d'énergie ; des acides aminés ; des ribosomes et de l'ARN.

Au lieu de l'ARN extrait des cellules, on utilise des molécules d'ARN synthétisées artificiellement ; et dont la séquence nucléotidique est déterminée par l'expérimentateur.

Par exemple, si on utilise un ARN dont la séquence nucléotidique est un « poly U » ; Le polypeptide synthétisé comporte uniquement une succession de résidus phénylalanine.

Doc 5 : La synthèse des protéines in vitro et la recherche du code génétique.

le code génétique

Première lettre (côté 5')	U		C		A		G		Troisième lettre (côté 3')
	Deuxième lettre								
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
U	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
U	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
U	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
C	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
C	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
C	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
A	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
A	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
A	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
G	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
G	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
G	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G

codon d'initiation — codon de terminaison

Doc 6 :

Dans la cellule, on trouve trois types de molécules d'ARN :

L'ARN messager (ARNm) : Chaque molécule d'ARNm, constitue une copie d'un gène.

L'ARN de transfert (ARNt): Il existe 61 types de molécules d'ARNt. Ces molécules diffèrent surtout au niveau d'un triplet de nucléotides appelé, « **anticodon** ». L'anticodon a la propriété de s'apparier à un autre triplet au niveau de l'ARNm, **le codon.** La molécule d'ARNt possède aussi un site qui fixe une molécule d'un acide aminé bien déterminé, par une liaison covalente.

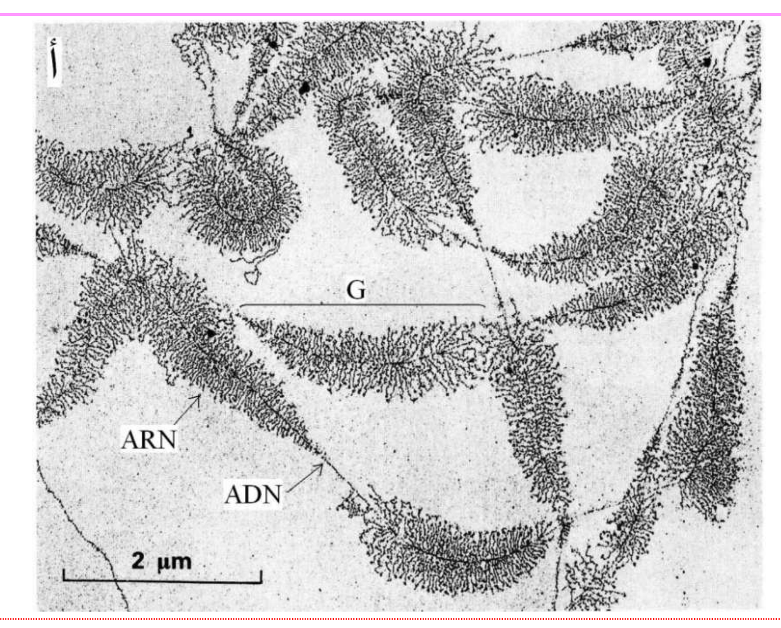


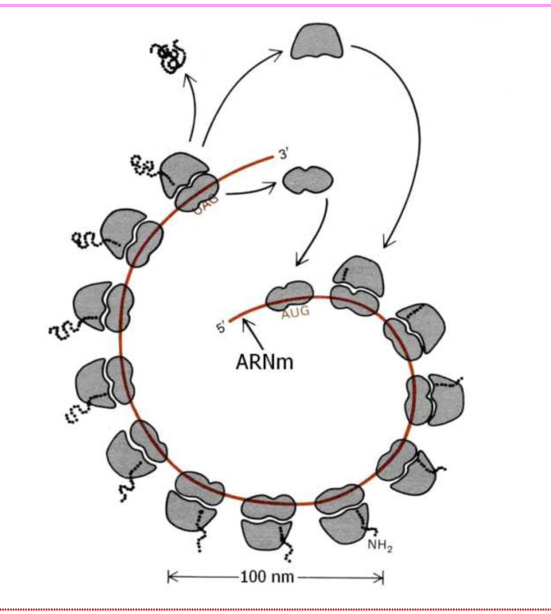
L'ARN ribosomal (ARNr) :

Le ribosome est une association de protéines et de molécules d'ARNr. Il est constitué de deux parties appelées, la grande sous-unité et la petite sous-unité. Le ribosome fait office d'un complexe enzymatique qui dirige plusieurs réactions au cours de la synthèse des protéines.

Doc 7 : Les trois types d'ARN

site de fixation de l'acide aminé
OH extrémité 3'
extrémité 5'
nucléotides modifiés
anticodon

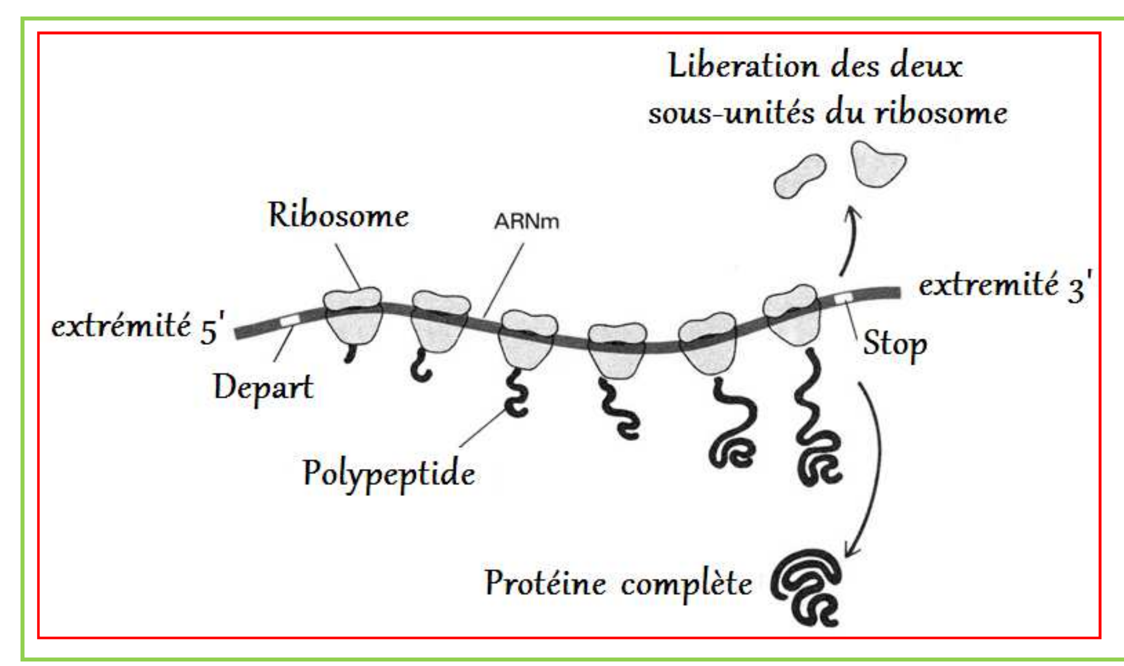




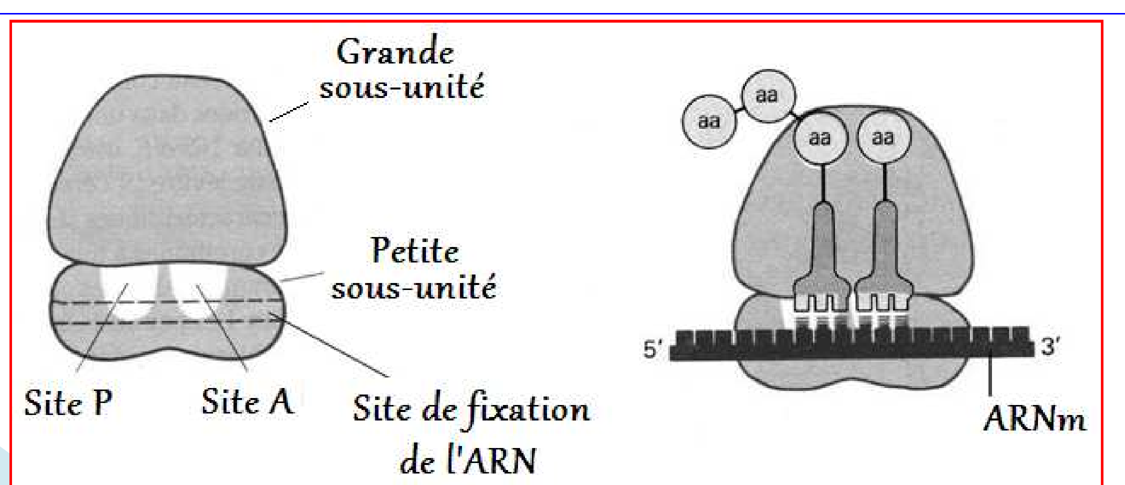
.**a**- Synthèse des molécules d'ARN au niveau du noyau : Transcription

.**b**- Polymérisation des acides aminés au niveau du cytoplasme : Traduction

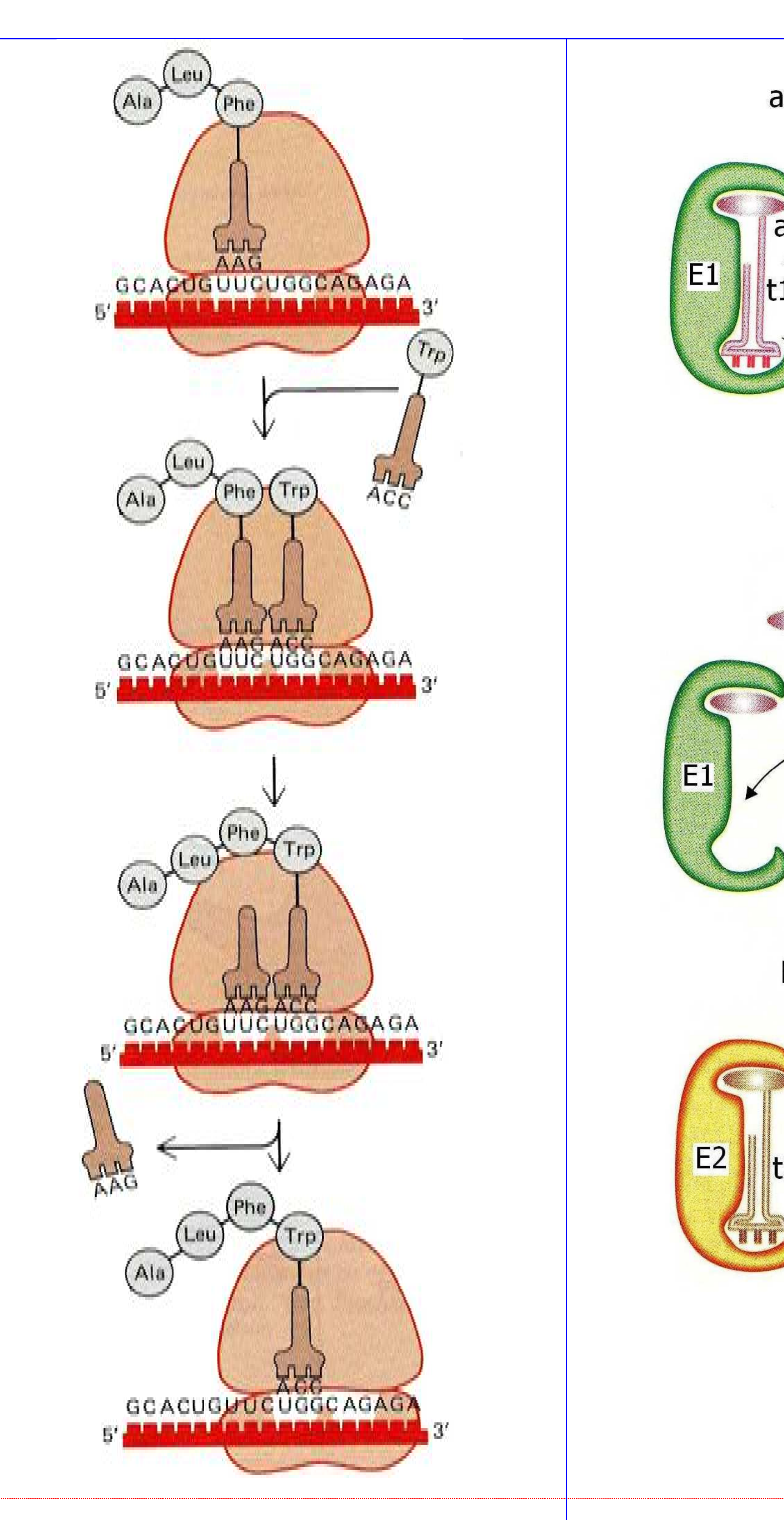
Doc 8 : Les deux phases de la synthèse des protéines.



Doc 9 : Les étapes de la traduction : Initiation – Elongation - Terminaison

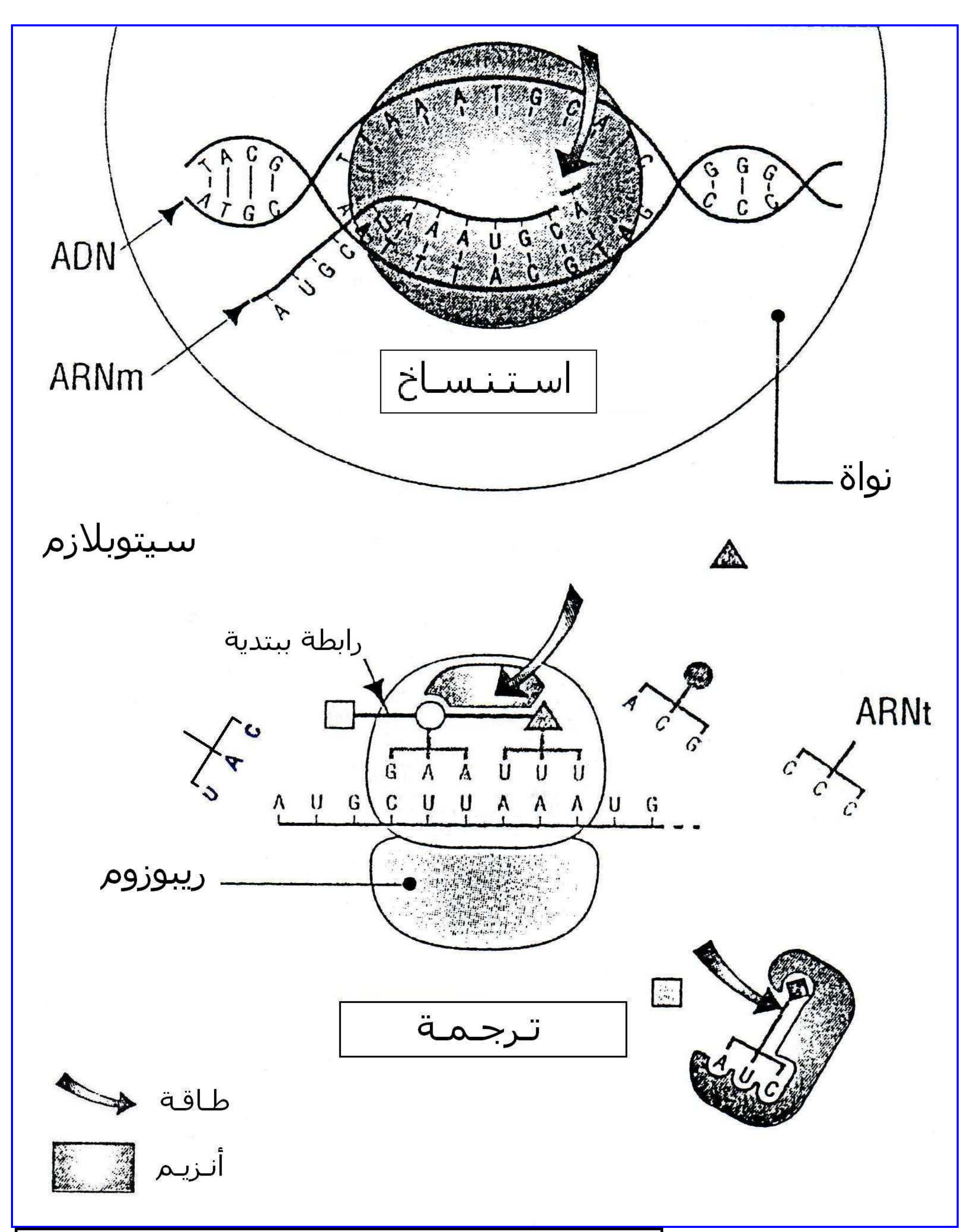


Doc 10 : Structure fonctionnelle du ribosome.



Doc 11 : Les étapes de la polymérisation des acides aminés.

Doc 12 : Rôle des enzymes qui fixent les acides aminés sur les ARNt.

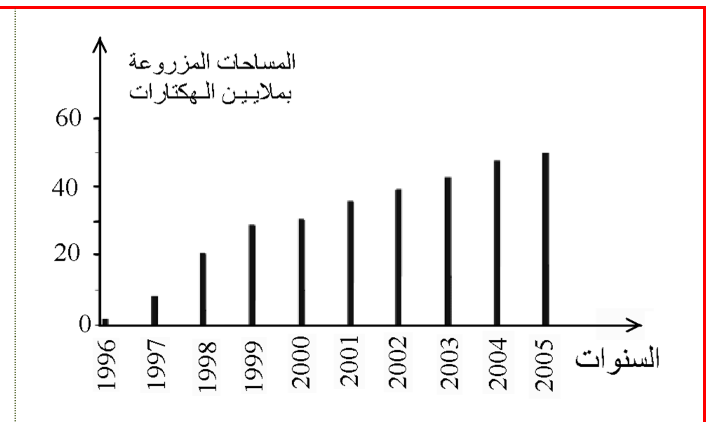


Doc 13 : La synthèse des protéines : transcription et traduction.

Chapitre III : Le génie génétique : Principes et techniques.



Doc1 : Modèle moléculaire d'un enzyme de restriction (ECRI)
La découverte des enzymes de restriction fut une étape cruciale dans le développement du génie génétique.



Doc2 : Evolution des surfaces cultivées avec des plantes génétiquement modifiées aux états unis entre 1996 et 2005



Doc 3 : Le maïs occupe une place importante parmi les plantes génétiquement modifiées ; vue l'ampleur des surfaces cultivées surtout aux USA.



Doc4 : l'insuline utilisée par des millions de personnes diabétiques à travers le monde est le fruit du génie génétique

- Quels sont les objectifs du génie génétique ; et quels sont les principales techniques utilisées ?
- Comment peut-on élucider l'importance du génie génétique, à travers quelques exemples dans le domaine agricole et le domaine médical

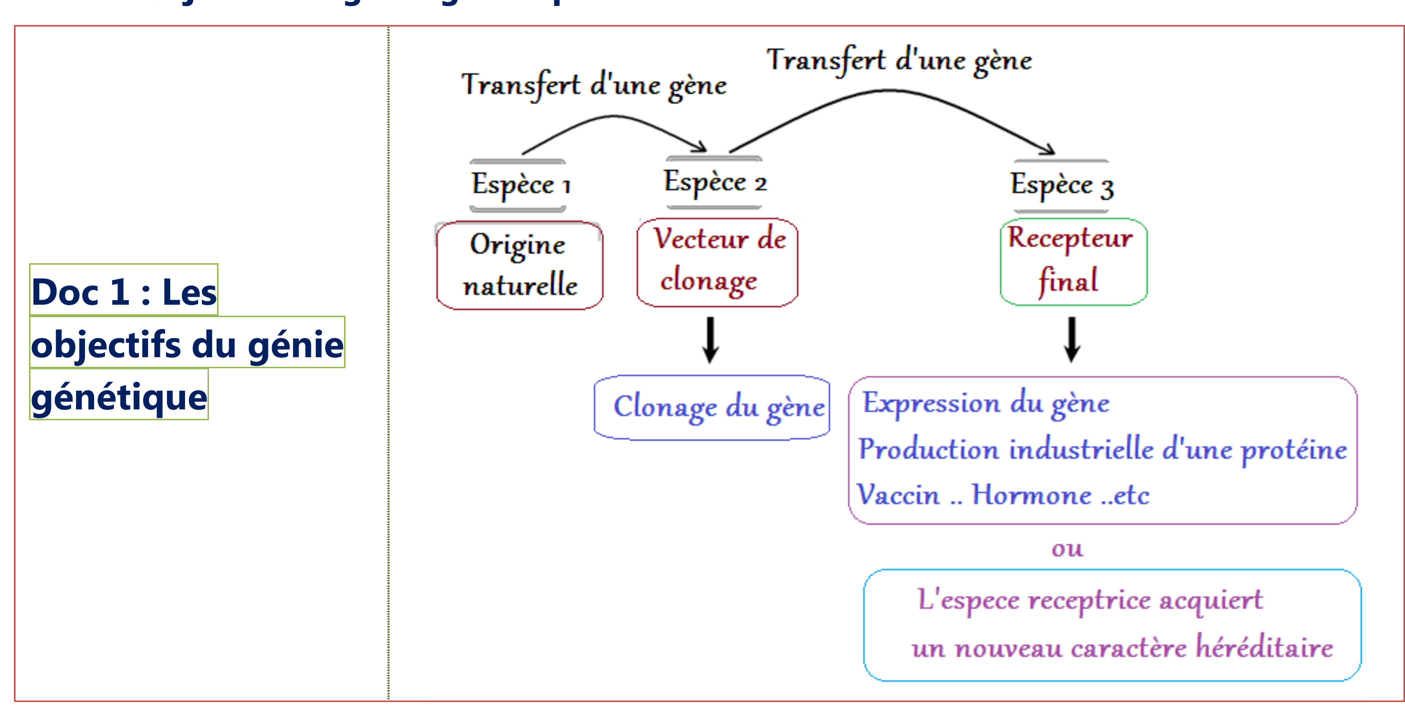
Unité 1 : Le génie génétique : Objectifs et moyens.

Dans le cadre naturel, l'information génétique se transmet de génération en génération, à travers la reproduction sexuée ou la reproduction asexuée. Et ce au sein des individus de la même espèce.
Dans le cas du génie génétique, on peut transférer un gène ou un nombre limité de gènes d'une espèce à l'autre.

- **Dans quel but on transfert un gène d'une espèce à une autre ?**
- **Quels sont les moyens utilisés ?**

.A- Les objectifs du génie génétique

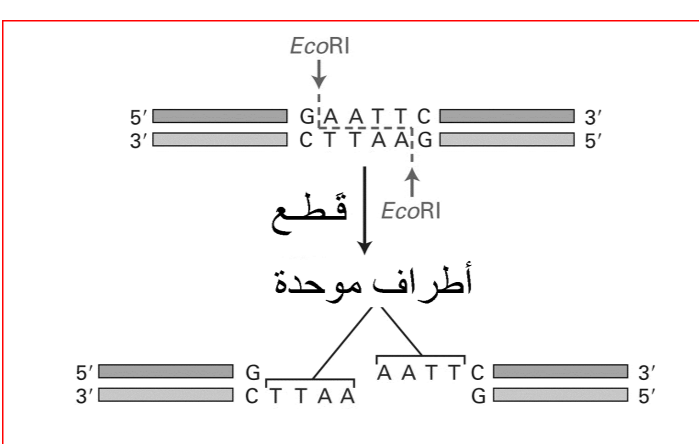
Doc 1 : Les objectifs du génie génétique



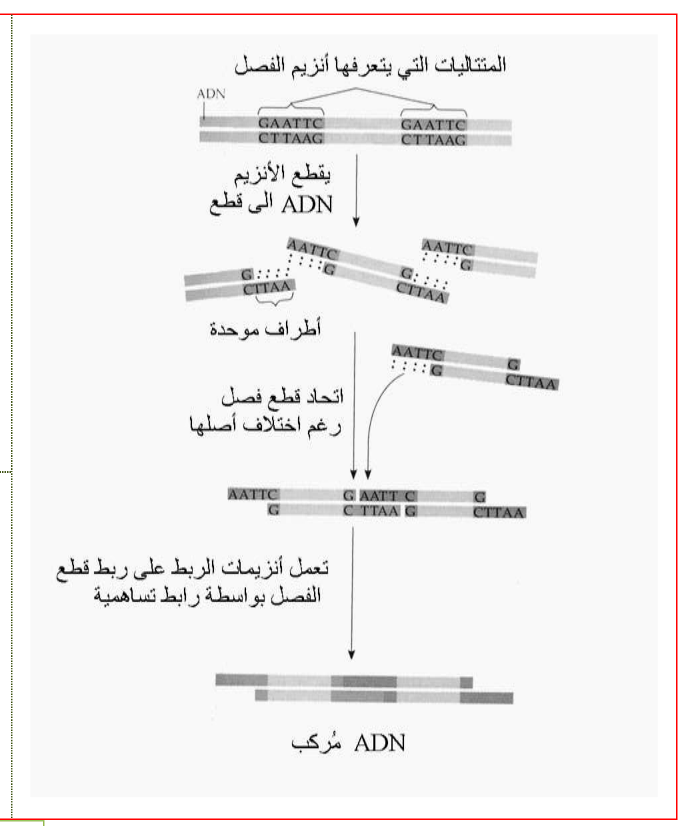
.B- Les moyens utilisés :

Enzyme	La bacteria source	Sequence ciblé	Coupure
Eco RI	Escherichia coli	5'GAATTC 3'CTTAAG	5'---G **AATTC---3'** 3'---CTTAA **G---5'**
AluI	Arthrobacter luteus	5'AGCT 3'TCGA	5'---AG **CT---3'** 3'---TC **GA---5'**
TaqI	Thermus aquaticus	5'TCGA 3'AGCT	5'---T **CGA---3'** 3'---AGC **T---5'**
HindIII	Haemophilus influenzae	5'AAGCTT 3'TTCGAA	5'---A **AGCTT---3'** 3'---TTCGA **A---5'**
BamHI	Bacillus amyloliquefaciens	5'GGATCC 3'CCTAGG	5'---G **GATCC---3'** 3'---CCTAG **G---5'**

Les enzymes de restriction sont capables de couper l'ADN au niveau des sites précis, après avoir reconnu des séquences nucléotidiques bien déterminées. Ainsi une molécule d'ADN peut-être découpé en plusieurs fragments ; **les fragments de restriction.** **Doc 2**



Les enzymes de restriction ont la propriété de couper l'ADN au niveau de séquences bien précises.
*Généralement un enzyme de restriction coupe les deux brins au niveau de deux points décalés. Ce qui donne des extrémités monocaténaires appelées « **bout cohésif** ».*
*Sous l'effet d'un enzyme de restriction, une longue molécule d'ADN est découpée en petits morceaux appelés les « **fragments de restriction** ».*



Doc 3 : Les propriétés des enzymes de restriction.

Les ligases sont des enzymes que l'on peut extraire de certains micro-organismes. Elles ont la propriété de lier deux extrémités d'ADN, 3′ et 5′.

La transcriptase inverse est un enzyme qui est présent naturellement chez les virus qui ont l'ARN comme acide nucléiques, au lieu de l'ADN.

La transcriptase inverse synthétise une molécule d'ADN appelée ADNc, à partir d'une molécule d'ARN, selon les étapes décrites par le schéma ci-contre.

Les ligases, les enzymes de restriction et la transcriptase inverse sont des enzymes importantes en génie génétique.

❶ AUGC
❷ AUGC / TACG
❸ ~~AUGC~~ / TACG
❹ TACG
❺ ATGC / TACG

Doc 4 :

Activité

1- À partir du Doc 1, précisez les objectifs des techniques du génie génétique.

2- Comment pourriez-vous expliquer l'appariement spontané des bouts cohésif, quel que soit l'origine de l'ADN utilisé. Qu'est-ce qui va rendre cette liaison permanente ?

3- Comparez les fonctions de l'ARN polymérase et la transcriptase inverse

4- À partir du Doc 4, décrivez les étapes du fonctionnement de la transcriptase inverse.

5-Comment pourriez-vous expliquer la présence de la transcriptase inverse chez les rétrovirus ?

Unité 1 : Les étapes du transfert d'un gène dans une bactérie.

Les techniques du génie génétique utilisent essentiellement les microorganismes, notamment les virus et les bactéries.

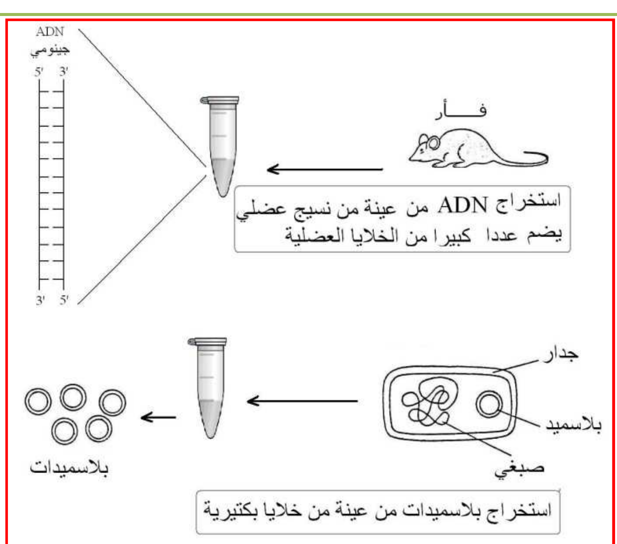
- **Quels sont les étapes du processus de transfert d'un gène d'un organisme eucaryote dans une bactérie ?**

Le génome bactérien :

Plusieurs bactéries possède en plus du chromosome principal, un chromosome secondaire appelé plasmide. Les gènes contenus dans le plasmide peuvent être indispensables à la vie de la bactérie dans certaines conditions. Les cellules bactériennes échangent naturellement les plasmides entre elles. Le plasmide peut se répliquer indépendamment du chromosome principal. Ainsi la bactérie peut avoir à un moment donné, plusieurs plasmides.

Première étape :

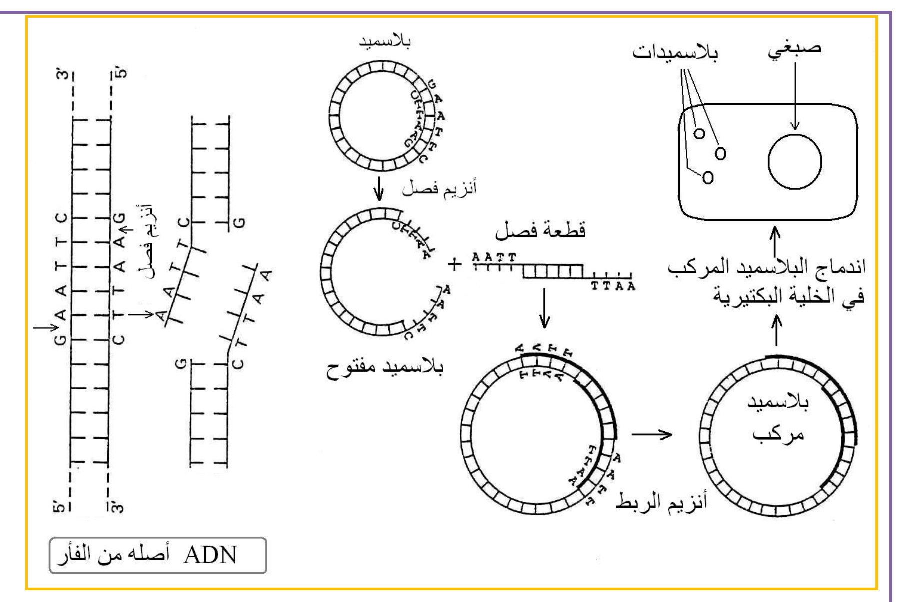
- Extraction de l'ADN génomique d'un échantillon de cellules musculaires de souris par exemple. Le génome englobe tous les gènes de la souris, y comprit le gène recherché.
- Dans une autre expérience, on procède à l'extraction de plasmides bactériens.



Deuxième étape :

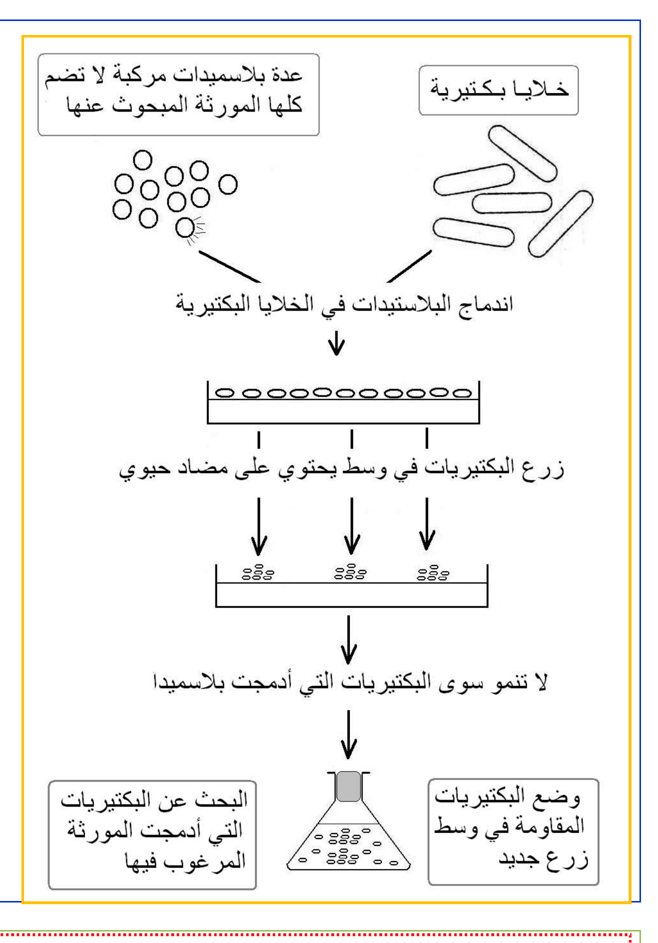
On traite les plasmides et l'ADN de la souris, avec le même enzyme de restriction. Ainsi on obtient des plasmides ouverts, et des fragments de restriction.

On mélange les plasmides ouverts et les fragments de restriction dans le même tube à essai. L'appariement des bouts cohésif se fait spontanément. On utilise ensuite une ligase pour lier les fragments de restriction et les plasmides. (Liaisons covalentes). Ainsi on obtient des plasmides composés. On rassemble les plasmides composés et des bactéries dans un milieu convenable. Ce qui va permettre à certaines bactéries d'intégrer des plasmides.

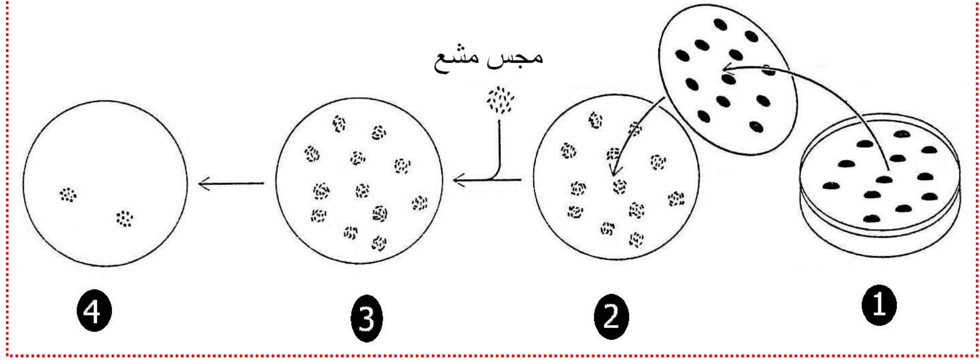


Troisième étapes :

Après l'incorporation des plasmides par Les bactéries ; on cultive ces dernières dans un milieu contenant un antibiotique. Le plasmide contient d'une façon naturelle and un gène qui procure à la bactérie la résistance à l'antibiotique.



Quatrième étape :



- La boîte de Petri contient des bactéries ayant intégré des plasmides composés.
- On transfère un échantillon de chaque clone bactérien sur un papier spécial.
- On dispose de papier dans une solution qui fait éclater les bactéries, et sépare les deux brins d'ADN.
- Le papier est intubé dans un milieu contenant une **sonde radioactive.** La sonde est un fragment d'ADN monocaténaire radioactif ; et dont la séquence nucléotidique est compatible avec une partie du gène recherché
- Après incubation, on procède au lavage du papier.
- On expose le papier à un film photographique, sur lequel apparaissent des taches noires, au niveau des points qui correspondent à l'emplacement de la sonde radioactive sur le papier. (autoradiographie).

Activités :

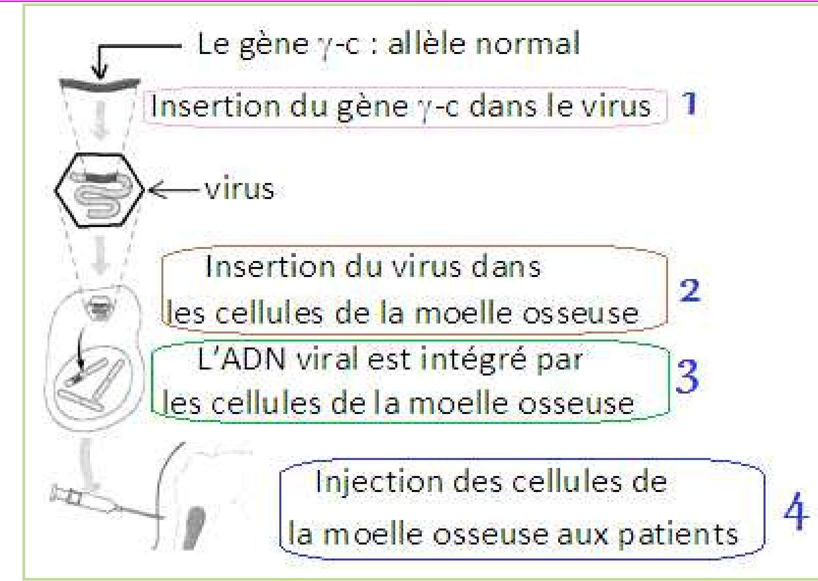
.1- Expliquez pourquoi les plasmides ouverts et les fragments de restriction s'apparient spontanément. Quelle est l'importance de la Ligase ?

.2- Pourquoi tous les plasmides composés ne contiennent pas le gène recherché ?

.3- Quelle est l'importance de la troisième et la quatrième étape ?

.4- Comment est exploité le résultat de l'autoradiographie ?

Unité 3 : La thérapie génique / La production d'un vaccin contre l'hépatite B.

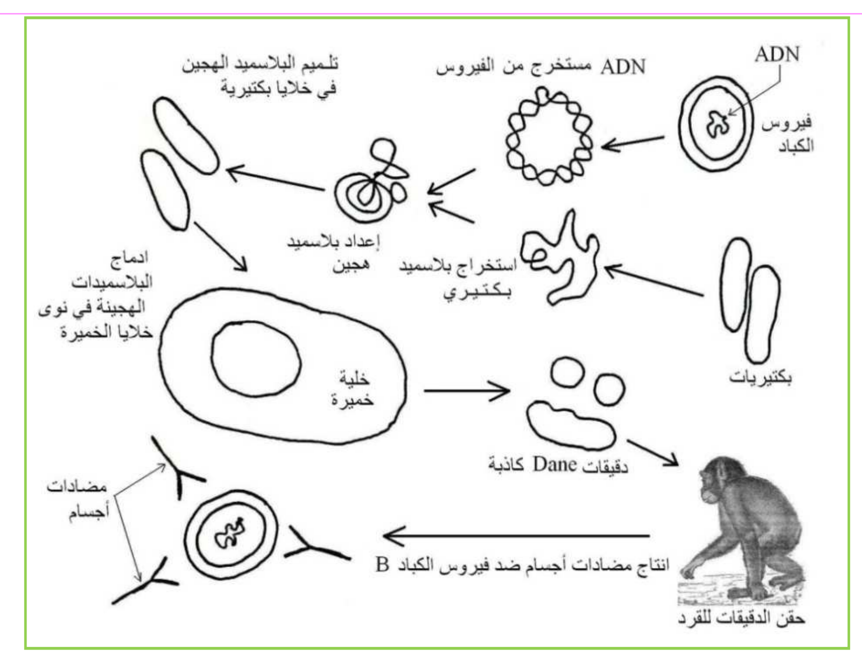


- Une tare génétique est due à l'absence du **gène γ-c**, qui intervient dans la différenciation des lymphocytes T et des cellules NK, au niveau de la moelle osseuse et du thymus.
- Toutes les cellules sanguines, y compris les cellules immunitaires, sont issues de cellules souches, au niveau de la moelle osseuse.
- Les patients souffrent d'une immunodéficience sévère. On les traite par la greffe d'une moelle osseuse, issue d'un donneur histocompatible. Or les donneurs histocompatibles sont généralement rares.
- En attendant l'intervention, les patients sont mis dans une enceinte stérile appelée « bulle ».
- La thérapie génique suit les étapes suivantes :
  - Le gène est isolé à partir de cellules saines. Il est ensuite intégré dans un virus dont la virulence est atténuée.
  - Extraction de cellules souches, à partir d'un échantillon de la moelle osseuse des patients atteints.
  - Insertion du virus génétiquement modifié dans les cellules de la moelle osseuse, qui deviennent à leur tour génétiquement modifiées, après intégration du gène γ-c.
  - On greffe au patient, les cellules de la moelle osseuse génétiquement modifiés, par injection dans la circulation sanguine.
  - Les cellules de la moelle osseuse injectées rejoignent spontanément leur emplacement naturel ; et commencent le travail de production des cellules immunitaires.

Ainsi le système immunitaire des patients reprend ses fonctions ; et la déficience disparaît. On peut à cette étape faire sortir le patient de la bulle.
On effectue des tests et des vaccins pour vérifier le fonctionnement du système immunitaire.

Doc 1 : Exemple de thérapie génique

On a utilisé des cellules de levure pour produire un **vaccin** contre **l'hépatite B**. Cette maladie virale qui touche des millions de personnes à travers le monde.
On peut isoler, à partir du sang des malades, soit des particules virales complètes, soit des capsides vides ne contenant pas d'ADN. Ces capsides vides sont appelées **« particules de Dane »**. Les particules de Dane ont un **pouvoir vaccinal** ; mais leur utilisation est couteuse, à cause du problème de la pureté et de la quantité.



Les particules de Dane contiennent une protéine qui s'intitule « **antigène HbSAg** ». Cette protéine est enchâssée dans une membrane originaire d'une cellule infectée.
Utilisée séparément, la protéine a un pouvoir vaccinal médiocre, contrairement aux particules de Dane. Il était donc nécessaire de chercher un moyen pour avoir une grande quantité de cette protéine capable de s'associer au sein de vésicules membranaires closes.

Le gène de HbSAg a été cloné dans E. coli, puis transféré dans des cellules de levure qui ont joué le rôle de **vecteur d'expression** ; c'est-à-dire lieu de la synthèse de la protéine.
Le broyage mécanique du cytoplasme des cellules de levure, laisse apparaître des vésicules membranaire ayant intégré la protéine. Ce sont **les pseudo particules de Dane**.
Un chimpanzé à qui l'on a injecté des pseudo particules de Dane, produit des anticorps contre le virus de l'hépatite B. Le pouvoir vaccinal est donc vérifié.

Doc 2 : Production de vaccin contre l'hépatite B

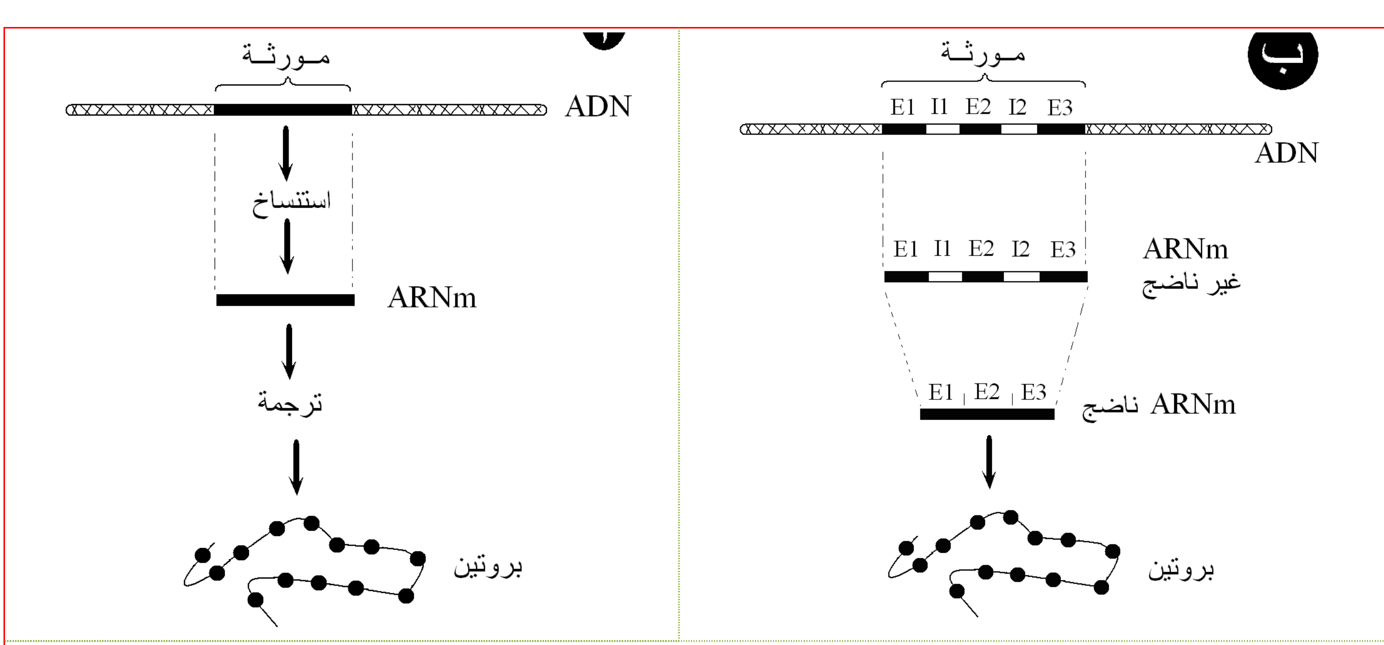
Activité :

Génothérapie :	***Le vaccin de l'hépatite B :***
.1- La thérapie génique ou génothérapie, consiste à faire pénétrer des gènes dans les cellules ou les tissus d'un individu, pour traiter une maladie. La thérapie génique vise à remplacer un allèle mutant défectueux par un allèle fonctionnel. ***Citez certaines difficultés de cette thérapie.***	*.4- Précisez la signification des expressions suivantes : problème de pureté ; problème de quantité ; vecteur d'expression.*
.2- Quelles sont les particularités de la maladie liée au gène γ-c, qui ont favorisé la réussite de la génothérapie ?	*.5- Quel est le rôle du virus de l'hépatite B, de la bactérie et des cellules de levure ?*
.3- Quel est le rôle du virus utilisé, et quel sont les traitements qu'il a subi auparavant ?	*.6- À votre avis pourquoi on a utilisé des cellules de levure comme vecteur d'expression, et non pas des bactéries ?*

Unité 4 : La production industrielle de l'insuline.

L'insuline est une hormone produite par le pancréas. Sa production insuffisante entraîne le diabète. Aujourd'hui, les diabétiques disposent d'insuline humaine produite par génie génétique. On isole d'abord le gène producteur d'insuline. On utilise ensuite un vecteur d'expression : un plasmide. C'est le transporteur génétique du gène. Il est inséré dans une cellule hôte, une bactérie Escherichia coli. Cette bactérie ainsi modifiée se multiplie dans un fermenteur, en produisant automatiquement de l'insuline humaine en grande quantité.

- *Quelles sont les étapes de la production d'insuline par génie génétique ?*
- *Comment on a dépassé la différence des mécanismes d'expression des gènes entre les mammifères et les bactéries ?*



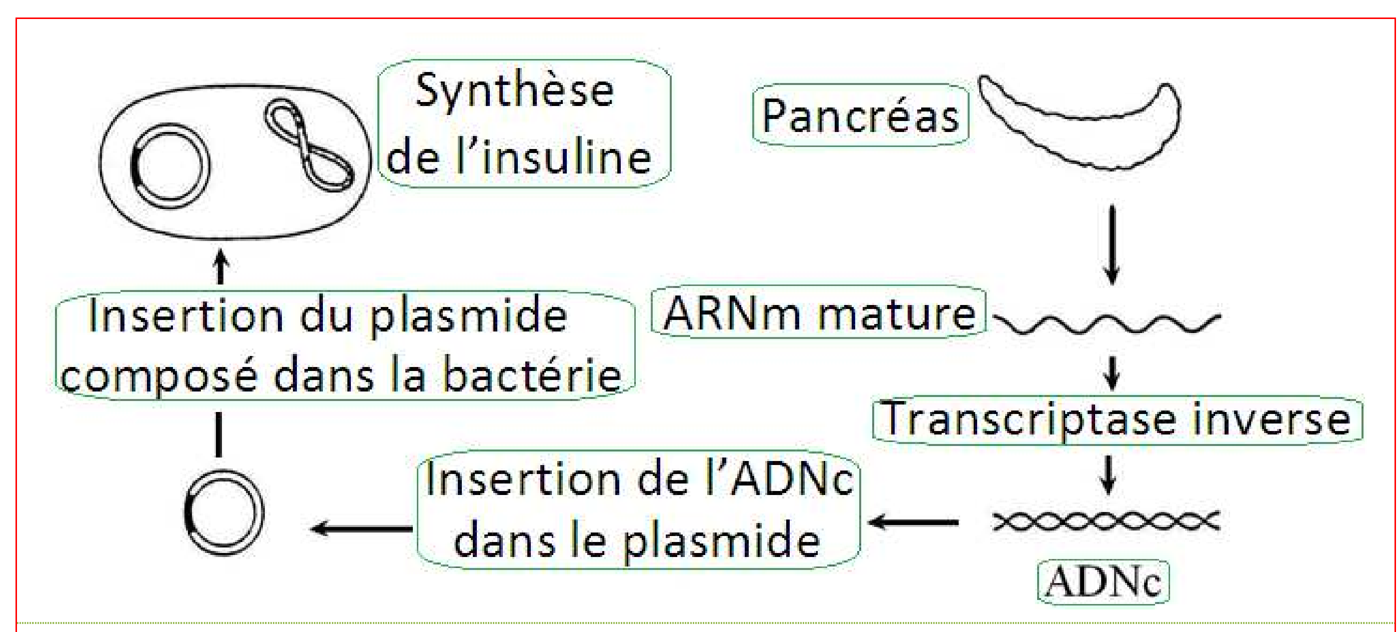
La synthèse des protéines chez Escherichia coli : Cette synthèse s'effectue d'une manière relativement simple. Le gène est transcrit en ARN messager dans le cadre de **la transcription. La traduction** permet de synthétiser la protéine à partir de l'ARNm.

Synthèse des protéines chez les mammifères :

- Chez les mammifères les gènes ont une structure en mosaïque. Ils sont constitués de séquences codantes qui ont des séquences correspondantes au niveau de la protéine. Ce sont les **exons.** Et des séquences non codantes qui n'ont pas de séquences correspondantes au niveau de la protéine. Ce sont **les introns**.
- Dans un premier temps, le gène est transcrit entièrement en ARN messager immature, qui comporte des séquences codantes et des séquences non codantes.
- Après, des enzymes spécifiques procèdent à l'élimination des séquences non codantes. Ainsi l'ARN messager immature se transforme en un ARN messager mature ; c'est-à-dire susceptible de subir la traduction. La traduction aboutit à la formation de la protéine.

Les cellules bactériennes ne possèdent pas d'enzymes qui éliminent les séquences non codantes

Doc 1 : La synthèse des protéines chez les bactéries(a) ; et chez les mammifères (b).



De l'ADN dit complémentaire (ADNc), peut être préparé à partir de l'ARNm mature qui code pour l'insuline. On utilise pour cela la transcriptase inverse. L'ADNc peut être exprimé à l'intérieur des cellules d'E. coli.

Doc 2 : Production industrielle d'insuline

Activités :

1- Pourquoi on utilise l'ADNc au lieu d'extraire le gène naturel de l'insuline, directement à partir des cellules humaines ?

2- Quel est le rôle La transcriptase inverse dans cette technique ?

3- Toutes les cellules de l'organisme contiennent le gène de l'insuline. Pourquoi on procède à l'extraction de l'ARN messager mature qui code pour l'insuline, précisément à partir des cellules du pancréas ?

4- Quelle est la propriété du code génétique qui a favorisé la réussite des techniques du génie génétique ?

Unité 5 : L'utilisation d'Agrobacterium tumefaciens en génie génétique.

Agrobacterium tumefaciens est une bactérie qui vit dans les sols. Elle parasite les végétaux, et elle est responsable d'une maladie appelée « **galle du collet** ».

- Quelle sont les particularités de ce cas de parasitisme ?
- Comment ces particularités ont-elles été exploitées en génie génétique ?

a

VIR
ONC
P
OPS
OPC
T
ADN-T

b

(1)
(2)
(3)
(4)
Ti plasmid
T-DNA
Bacterial chromosome
A. tumefaciens
Infection of plant cell and integration of T-DNA
Plant chromosomal DNA
T-DNA
Transformed plant cell
Crown gall
(a)
Agrobacterium tumefaciens

Doc1 α: Agrobacterium tumefaciens ; le cas d'un parasitisme naturel

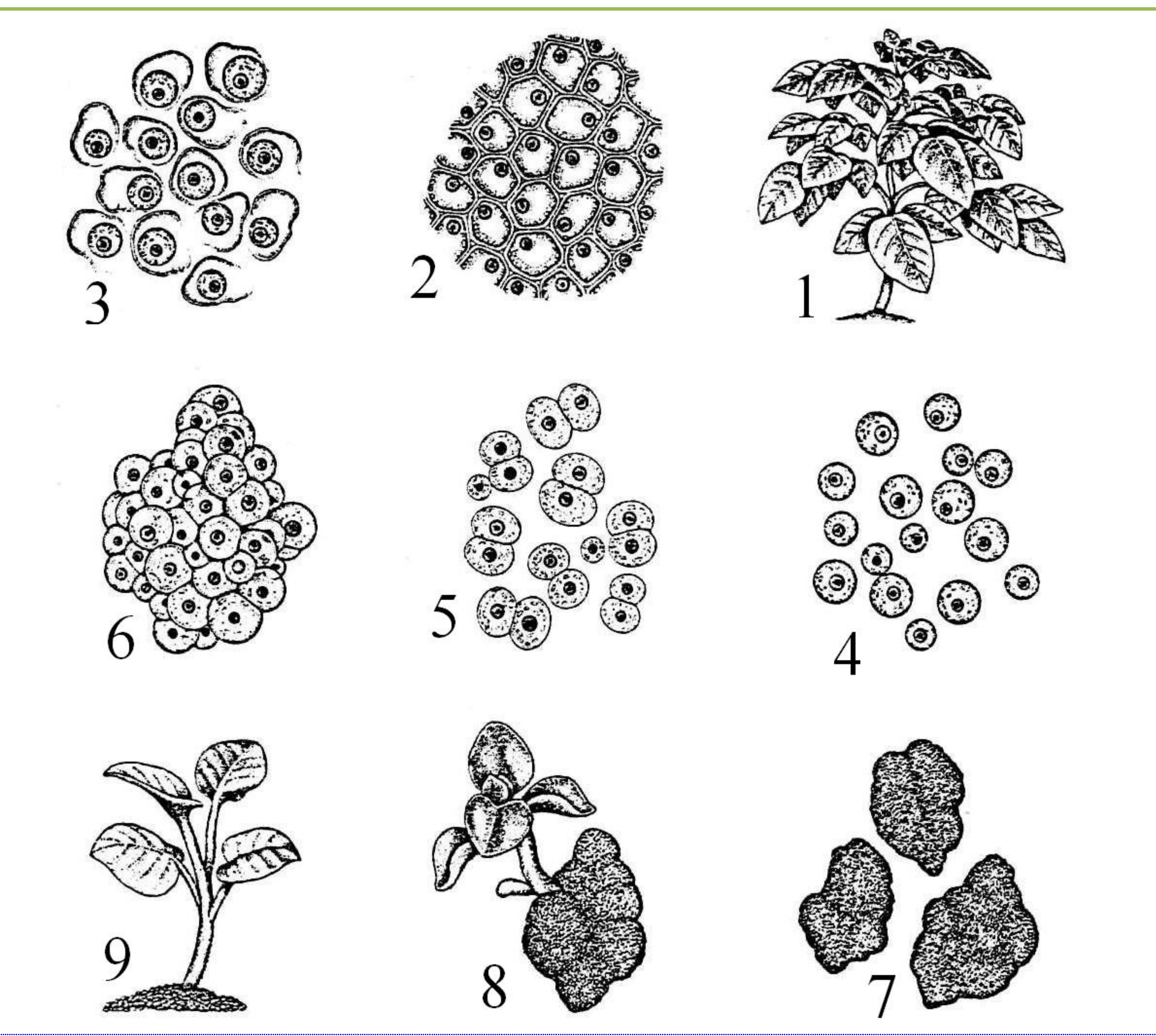


- **La galle du collet** (a) est une tumeur végétale causée par la bactérie **« Agrobacterium tumefaciens »** qui vit dans le sol ; et qui porte un plasmide responsable de la tumeur. On l'appelle **« plasmide Ti »**.
- C'est un cas de parasitisme particulier. En effet le parasite transfère une partie de son génome dans les cellules de l'hôte.
- Agrobacterium tumefaciens transfert une partie de son plasmide Ti, dans les cellules végétales. Cette partie s'appelle **ADN-T**.
- Le plasmide Ti comporte plusieurs gènes (b) :

- Le gène **VIR** responsable de la virulence ; c'est-à-dire la capacité de la bactérie à transférer l'ADN-T dans les cellules végétales.
- Le gène **ONC** responsable de l'apparition de la tumeur dans les cellules végétales.
- Le gène **OPS** responsable de la synthèse des opines dans les cellules végétales. Ces substances sont secrétées dans le sol et consommées par les bactéries qui vivent aux alentours de la tumeur.
- Un gène promoteur **P**, et un gène terminateur **T**, responsables de l'expression du gène OPS à l'intérieur des cellules végétales.
- Le gène **OPC**, responsable du catabolisme des opines à l'intérieur des cellules bactériennes, dans le cadre de la nutrition.

- Après la mort de la plante, la tumeur se disloque, et les bactéries qui vivait tout autour se dispersent dans le sol, et peuvent parasiter une autre plante.

Doc1 β : Agrobacterium tumefaciens ; le cas d'un parasitisme naturel

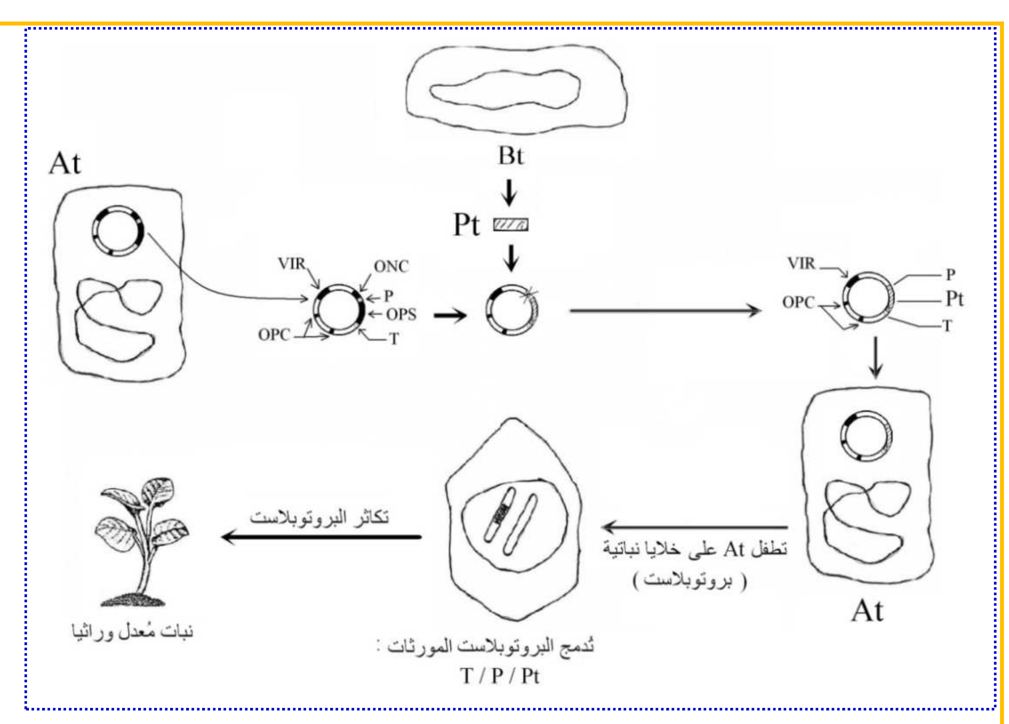


- On prélève des cellules de la plante à multiplier ; et on les traite avec un enzyme qui détruit la paroi cellulosique. Ainsi on obtient des cellules sans paroi, non jointives appelées **protoplastes**. **(1-2-3)**
- On met en culture les protoplastes dans un milieu nutritif gélosé, dans une boîte de Petri. Les cellules vont donc se multiplier par mitose. **(4-5-6)**
- Les amas de cellules obtenues par mitose, sont ensuite partagés et répartis sur d'autres boîtes de Pétri, dans lesquels elles vont se multiplier davantage. **(7)**
- Les amas de cellules sont traités par des hormones végétales qui vont provoquer la formation de plantules. **(8)**
- Les plantules sont replantées dans le sol à l'intérieur des serres. **(9)**
- Comparé aux techniques traditionnelles des pépinières, la culture in vitro permet d'obtenir une grande quantité de plantules.

Doc2 : Le principe de la culture in vitro des cellules végétales

Plusieurs plantes cultivées sont ravagées par les chenilles des papillons.

Les chercheurs ont découvert une protéine toxique (**Pt**), capable de détruire les chenilles. Le gène qui code pour la protéine (Pt) se trouve d'une façon naturelle, dans le programme génétique de la bactérie **Bacillus thuringiensis** (**Bt**).



Grâce aux techniques du génie génétique, on a pu produire des plantes génétiquement modifiées résistantes aux chenilles. Ces plantes sont capables de secréter la protéine (Pt). La technique suit les étapes suivantes :

.**1**- Extraction du gène qui code pour la protéine (Pt), à partir des cellules de Bacillus thuringiensis (Bt).

.**2**- Extraction du plasmide Ti de la bactérie Agrobacterium tumefaciens. Ensuite on élimine le gène VIR, et on remplace le gène OPS par le gène qui code pour Pt ; tout en conservant le gène promoteur **P**, et le gène terminateur **T**.

.**3**- Intégration du plasmide modifié dans des cellules d'Agrobacterium tumefaciens, dépourvues de leur plasmide originel.

.**4**- Les bactéries Agrobacterium tumefaciens, qui portent le plasmide modifié, sont introduites dans un milieu qui contient des protoplastes du végétal que l'on veut modifier.

.**5**-Les cellules d'Agrobacterium tumefaciens parasitent spontanément les protoplastes. Ainsi elles insèrent dans ces cellules, les gènes de Pt ; P et T.

.**6**-Les protoplastes se multiplient dans le cadre de la culture in vitro. Ainsi on obtient un grand nombre de plantules génétiquement modifié.

Doc 3 : Un exemple d'exploitation d'Agrobacterium tumefaciens en génie génétique

Activités :

.1- Comment Agrobacterium tumefaciens profite-t-elle du parasitisme ? Et quel est le dommage subi par la plante ?

.2- Représentez avec un schéma-bilan les phases du parasitisme d'Agrobacterium tumefaciens.

.3- Comment on a exploité la technique de la culture in vitro dans cet exemple de génie génétique ?

.4- Précisez l'objectif visé par chacune des modifications subies par le plasmide Ti.

.5- Comment la plante génétiquement modifiée conserve-t-elle ses nouveaux caractères héréditaires à travers les générations ?